

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

N° 44

FACULTE DE MEDECINE

Travail des Laboratoires de Chimie Biologique et Médicale de la Faculté de Médecine. ~ Professeur P. CRISTOL

RECHERCHES

sur les

ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX (phosphore inorganique)

DES HUMEURS

Dosage, Répartition, Évolution

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 6 Juillet 1934

PAR

Jean CAYLA

Licencié ès Sciences

Né le 14 Octobre 1908, à Ouveillan (Aude)

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examineurs
de la Thèse

MM. CRISTOL, professeur, président.
LISBONNE, professeur.
GIRAUD, professeur.
PUECH, agrégé.

assesseurs

IMPRIMERIE MARI-LAVIT
1. Rue de Sauvages, 1
MONTPELLIER

1934

**RECHERCHES SUR LES
ORTHOPHOSPHATES MINERAUX
(PHOSPHORE INORGANIQUE)
DES HUMEURS**

DOSAGE = REPARATION = EVOLUTION

FACULTE DE MEDECINE

Travail des Laboratoires de Chimie Biologique et Médicale de la Faculté de Médecine. - Professeur P. CRISTOL

RECHERCHES
sur les
ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX (phosphore inorganique)
DES HUMEURS
Dosage, Répartition, Évolution

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 6 Juillet 1934

PAR

Jean CAYLA

Licencié ès Sciences

Né le 14 Octobre 1908, à Ouveillan (Aude)

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examineurs
de la Thèse

MM. CRISTOL, professeur, président.
LISBONNE, professeur.
GIRAUD, professeur.
PUECH, agrégé.

} assesseurs

IMPRIMERIE MARI-LAVI

1. Rue de Sauvages, 1
MONTPELLIER

1934

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Anatomie	MM. J. DELMAS
Histologie	TURCHINI
Physiologie	L. HEDON
Chimie biologique et médicale	CRISTOL
Physique médicale	PECH
Histoire naturelle médicale et Parasitologie	GALAVIELLE
Anatomie pathologique	GRYNFELT
Microbiologie	LISBONNE, asses.
Pathologie et thérapeutique générales	BOSC
Thérapeutique et matière médicale	BOUDET
Hydrologie thérapeutique et climatologie	N...
Hygiène	CARRIEU
Médecine légale et médecine sociale	GAUSSEL
Pathologie médicale et clinique propédeutique	GIRAUD
Clinique médicale	VIRES
Clinique chirurgicale	RIMBAUD
Clinique obstétricale	MASSABUAU
Clinique des maladies mentales et nerveuses	RICHE
Clin. des mal. des enfants et hyg. du premier âge	P. DELMAS
Clinique de dermatosyphiligraphie	EUZIERE, doyen
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LEENHARDT
Clinique des maladies des voies urinaires	MARGAROT
Clinique gynécologique	ETIENNE
Clinique ophtalmologique	JEANBRAU
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	LAPEYRE
Matière médicale (Ch. de c.)	VILLARD
Radiologie (Ch. de c.)	TERRACOL
	CABANNES
	LAMARQUE

Honorariat

Doyen honoraire : M. MAIRET

Professeurs honoraires :

MM. RODET, TEDENAT, MAIRET, GRANEL, VALLOIS, FORGUE,
ESTOR et BERTIN-SANS

Chargés de Cours Complémentaires

Anatomie	MM. LAUX
Histologie	GRANEL
Pathologie expérimentale	PAGES
Pathologie médicale	PUECH
Pathologie externe	AIMES
Médecine opératoire	SOUBEIRAN, ag. libre.
Accouchements	COLL DE CARRERA
Clinique physiologique	GAUSSEL, prof.
Clinique propédeutique médicale	BOULET
Clinique des maladies contagieuses	JANBON

Agrégés en exercice

Chirurgie	MM. AIMES
	MOURGUE-MOLINES
	GUIBAL
	ROUX
Médecine	MM. BOULET
	PAGES
	PUECH
	JANBON
	VIDAL
	BAUMEL
	LAUX
	N...
	COLL DE CARRERA
	GRANEL
	CARRERE



Examineurs de la Thèse

MM. CRISTOL, professeur, président.
LISBONNE, professeur.

MM. GIRAUD, professeur.
PUECH, agrégé.

La Faculté de médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON GRAND-PERE

LE DOCTEUR SIMON CAYLA

A MON PERE, LE DOCTEUR PAUL CAYLA

*Chirurgien en Chef des Hôpitaux
de Carcassonne.*

ET A MA MERE

A MES MAITRES

A MES PARENTS

A MES AMIS

AVANT-PROPOS

Après avoir relu cette thèse qui m'a coûté quatre années de recherches, je suis effrayé de voir que du travail que je voulais faire, il n'existe, en dépit de mes efforts qu'une bien pâle ébauche.

Trop nombreux sont les chapitres dont les conclusions sont remplacées par des hypothèses, trop nombreuses les affirmations qui demandent à être confirmées par de nouvelles preuves.

Aussi, je suis persuadé de ne pouvoir recueillir les suffrages des Maîtres qui me jugent, que s'ils daignent se borner à considérer ce travail comme une préface à des travaux ultérieurs.

Je dois, avant tout, dire que je suis seulement responsable des imperfections de mon œuvre. J'ai, en effet, trouvé auprès de mes Maîtres un soutien de tous les instants et, auprès de mes camarades des laboratoires ou des hôpitaux, une collaboration amicale.

Je ne pourrai exprimer en quelques lignes toute la reconnaissance que j'éprouve à l'égard de mon Maître, le Professeur CRISTOL, qui, après m'avoir donné le sujet de cette thèse, s'est constamment intéressé à mes travaux. Je n'oublierai jamais ses précieux

conseils que j'ai toujours respectueusement écoutés, ni ses audacieuses hypothèses qui ont très souvent trouvés confirmation dans mes recherches.

Que Messieurs les Professeurs LISBONNE et GIRAUD, qui ont bien voulu me faire l'honneur d'appliquer leur haute compétence à juger mon travail, trouvent ici l'expression de mon respect et de mon admiration.

Monsieur le Professeur Agrégé PUECH a bien voulu me diriger dans une partie délicate de mes recherches. Je ne pourrai l'oublier. Qu'il daigne voir, dans ces quelques mots, un faible témoignage de mon estime et de ma gratitude.

Je ne puis, non plus, oublier M. le Docteur L. PAGÈS qui, au cours de mon internat à Font-d'Aurelles, m'enseigna son doux scepticisme en matière de sciences, ni Monsieur IRISSOU, Pharmacien-Chef des Hospices de Montpellier, qui a tout fait pour m'aider dans mon travail.

J'ai eu l'heureuse fortune de collaborer avec le Docteur J. BOUCOMONT ; grâce à lui, ma thèse s'est augmentée de quelques importants paragraphes.

A tous mes camarades de laboratoire, j'adresse, en terminant, un très cordial souvenir et, en particulier, à J. DULCY, Chef du Laboratoire de Chimie des Cliniques Saint-Eloi, avec qui j'ai très étroitement collaboré.

J. C.

INTRODUCTION

LE PHOSPHORE INORGANIQUE

INTERET DE SON ETUDE

Dès sa découverte, le Phosphore a appartenu à la Biochimie. En 1669, l'alchimiste allemand BRANDT, qui cherchait à extraire la pierre philosophale de l'urine humaine, y découvrait le phosphore. Au XVIII^e siècle, GAHN reconnaissait la présence de ce métalloïde dans les os des animaux. Peu après, SCHEELÉ instituait un procédé de préparation du Phosphore à partir des os, encore utilisé, qui était l'unique procédé industriel employé jusqu'à la fin du siècle dernier.

L'extraction industrielle du Phosphore à partir de la matière vivante indique assez le rôle plastique important que joue cet élément dans les organismes.

Cependant, les plus récentes découvertes de la Biochimie montrent que son rôle métabolique n'est pas moindre.

L'acide orthophosphorique modifie les propriétés des substances organiques sur lesquelles il se fixe et les rend aptes à subir les transformations les plus diverses.

Il est actuellement bien établi que les osesphosphates sont les intermédiaires indispensables de la plupart des dégradations des glucides. (La glucydo-lyse sans orthophosphate par le coferment T. est, en effet, un mécanisme tout à fait exceptionnel).

On sait, de plus, que c'est dans les phosphatides que les acides gras subissent une déssaturation qui les rend plus fragiles et les livre, pour ainsi dire, sans défense, à la Boxidation.

Ces faits montrent bien que le Phosphore, agent de la combustion biologique des composés énergétiques par excellence que sont glucides et lipides, peut être justement considéré comme à la base de tout le métabolisme.

Enfin, depuis les travaux de LUNDGAND, il est établi que l'énergie nécessaire à la construction musculaire provient de l'hydrolyse de l'acide créatine phosphorique ou arginine phosphorique (phosphagènes).

*
**

Le nombre des composés du Phosphore, décrits en Chimie générale, est considérable, bien peu de ceux-ci se rencontrent en biochimie. *Toutes les combinaisons biologiques du Phosphore sont, en effet, ou bien des sels, ou bien des esters de l'un des acides phosphoriques dérivés de l'anhydride phosphorique (acide métaphosphorique excepté).*

Tous ces composés peuvent donc se grouper sous deux chefs :

a) Dérivés de l'acide orthophosphorique.

b) Dérivés de l'acide pyrophosphorique.

A) Parmi les dérivés de l'acide orthophosphorique, on groupe :

1°) *Sels minéraux* :

- a) *Sels alcalins* de Sodium (mono et disodique), de potassium (mono et dipotassique) d'Ammonium ;
- b) *Sels alcalino-terreux* de Calcium (monocalcique, dicalcique, tricalcique) de Magnésium (sous ces trois formes).
- c) *Sels doubles*. Phosphates ammoniaco-magnésiens (calculs).
- d) *Sels complexes*. $\text{CO}^3 \text{Ca}$, $2 (\text{PO}^4)_2 \text{Ca}^3$ (dans les os). BOGERT et HASTINGS (1).

2) *Combinaisons organiques* :

- a) Du type *sel*, avec des Amines simples (Spermatine) ; avec créatine et arginine ; avec choline ou colamine (?)
- b) Du type *ester*, de beaucoup les plus importantes :
 - 1) Avec *alcool acide aminé* (phosphoprotides) ;
 - 2) Avec un *triol*, acide monoglycéro-phosphorique α et β , acide diglycérophosphorique (*glycérophosphatides*).
 - 3) Avec un *polyol* à fonction aldéhyde ou cétone : *oses phosphates*, hexoses mono et diphosphates divers ; pentoses phosphates, désoxypentoses phosphates *des nucléo protéides*.
 - 4) Avec un *polyol* cyclique (inositol phosphates).

B) Les dérivés de l'Acide Pyrophosphorique sont moins nombreux et moins bien connus.

- a) Des sels métalliques de cet acide (Na. K...) ;
- b) Des esters dans les dilécithines et dans l'inositol pyrophosphate ;
- c) Liaison inconnue dans l'acide adényl pyrophosphorique.

ette classification chimique des combinaisons organiques de l'acide phosphorique nous indique mieux que l'ancienne classification biologique en Phosphore glucidique, lipidique, protidique et nucléoprotidique, les formes, somme toute, peu variées sous lesquelles le Phosphore se rencontre chez les êtres vivants.

Dans le groupe du *Phosphore inorganique*, on devrait logiquement comprendre les sels métalliques des acides ortho et pyrophosphoriques. A ceux-ci vient nécessairement s'ajouter le Phosphore libéré, à partir des combinaisons phosphoorganiques labiles au plus haut degré, par les défécations les moins brutales.

Nous voyons déjà qu'il n'existe pas une séparation bien nette en biologie entre le phosphore minéral et le phosphore organique. Le passage du Phosphore organique à l'état minéral se fait pour une grande partie de celui-ci, avec extrême facilité. C'est ainsi qu'un sang abandonné in vitro, voit sa quantité de phosphore inorganique augmenter progressivement sous l'influence des phosphatases. La faible acidité d'un filtrat trichloracétique de sang ou de globules est capable, elle aussi, de libérer des quantités croissantes d'orthophosphates inorganiques.

On ne peut, non plus, établir une cloison étanche entre les dérivés de l'acide orthophosphorique et ceux de l'acide pyrophosphorique. Le pyrophosphate

de Sodium, que l'on comptait dans les bilans analytiques parmi les combinaisons organiques de l'acide orthophosphorique, libère celui-ci par hydrolyse diastatique.

Cette imprécision des limites entre les diverses catégories des composés Biochimiques du Phosphore a permis à P. EGGLETON d'écrire :

« La plus grande partie du Phosphore inorganique » est, en réalité, organique, et la plus grosse partie » du lactacidogène est formée de Phosphore inorganique. »

Il semblerait donc que la notion de Phosphore inorganique soit assez confuse. Nous allons nous efforcer de la préciser.

On doit désigner par *phosphore inorganique*, les sels métalliques de l'acide orthophosphorique qui peuvent, soit préexister dans les milieux biologiques, soit provenir de l'hydrolyse d'un pyrophosphate ou d'une combinaison organique. Le Phosphore inorganique ainsi compris représente la fraction la plus mobile du Phosphore, celle qui est capable à chaque instant de se modifier par fixation ou libération. C'est la *fraction réagissante* du Phosphore.

A côté du Phosphore inorganique vient se placer le *Phosphore acidosoluble* qui comprend les fractions Phosphoro-organiques solubles (esters de faible poids moléculaire : acides glycérophosphoriques, oses phosphates, acide adénylique... etc...) et les pyrophosphates. Cette fraction du Phosphore constitue la *Fraction de transition*. Avec la première, elles forment la portion du Phosphore en *évolution*.

La dernière fraction du Phosphore comprend le *Phosphore stable*, que JAVILLIER (2) appelle : « la fraction la plus évoluée du Phosphore ».

Elle comprend le *Phosphore nucléaire* qui est un

des constituants du noyau cellulaire et les *Phosphores protidiques et lipidiques* qui sont des constituants cytoplasmiques.

Si l'étude de toutes ces diverses catégories de Phosphore n'est pas dépourvue d'intérêt, on comprend aisément que l'étude de la Fraction Réagissante du Phosphore soit celle qui présente la plus grande importance du point de vue métabolique.

C'est sur elle que nous avons surtout travaillé. Mais une étude portant sur un sujet aussi mobile serait nécessairement incomplète si elle se contentait uniquement de rendre compte d'un état passager. Aussi avons-nous essayé de suivre ce Phosphore inorganique dans son évolution et de préciser le mode d'action des facteurs qui le fixent ou le libèrent.

Notre travail, dont nous venons d'exposer le but, sera divisé en trois parties.

1°. — PARTIE ANALYTIQUE.

Quelle est la meilleure méthode de dosage qu'il convient d'employer pour doser les Orthophosphates dans les milieux biologiques ?

2°. — PARTIE STATIQUE.

Quel est le taux des Orthophosphates dans les diverses humeurs et leur répartition à l'état normal et pathologique ?

3°. — PARTIE DYNAMIQUE.

Comment se conduisent les orthophosphates au cours de l'auto-glycolyse « in vitro » à l'état normal et pathologique et quel est le mode d'action des phosphatases ?

PREMIERE PARTIE

**ETUDE D'UNE METHODE
CONVENANT AU DOSAGE DES
ORTHOPHOSPHATES INORGANQUES DANS
LES MILIEUX BIOLOGIQUES**

INTRODUCTION ET HISTORIQUE

Le dosage des orthophosphates inorganiques est un dosage, auquel le clinicien doit avoir recours pour compléter l'étude de son malade dans un grand nombre de maladies, en particulier dans les affections osseuses et rénales. Il ne faut pas croire cependant qu'un dosage actuellement très courant possède une technique des plus simples. Bien au contraire, pour de multiples raisons que nous allons étudier, nombreuses sont les précautions que doivent prendre les cliniciens et les Biochimistes pour que cette détermination soit faite avec toute l'exactitude nécessaire.

Le plus grand nombre des méthodes de dosage des orthophosphates se basent sur la formation d'un dérivé de l'acide Phosphomolybdique.

La quantité de ce dérivé est déterminée suivant le cas par une méthode pondérale, volumétrique, stéréométrique, néphélométrique ou colorimétrique. En Chimie générale on pèse le phosphomolybdate d'ammonium et en Biochimie le sulfophosphomolybdate de Baryum (Posternak). Dans la méthode Sørensen-Macheboeuf, on détermine par acidimétrie la quantité

du phosphomolybdate de sodium. On mesure le volume du complexe de Copaux. Mais la faible quantité des orthophosphates minéraux présents dans les milieux biologiques interdit l'utilisation d'une de ces méthodes dont la sensibilité n'est pas suffisante. Aussi est-on obligé d'avoir recours aux méthodes néphélométriques ou colorimétriques qui sont sensibles au millièème de milligramme.

Les méthodes néphélométriques reposent sur l'appréciation du trouble que fait apparaître dans le milieu la formation de Phosphomolybdate de Strychnine découvert par Pouget et Chouchak. La densité de ce trouble augmente sensiblement d'une façon directement proportionnelle à la quantité d'orthophosphates présents dans le milieu. Cette méthode a été utilisée par PORTE (3) en 1914 modifiée par BORDE (4) en 1922 et, enfin, en 1931, par S. G. CLARKE (5).

C'est aussi la formation du Phosphomolybdate de Strychnine qu'utilise la méthode d'EMBDEN. Dans cette méthode on centrifuge le milieu troublé par la formation du phosphomolybdate de strychnine. On le sépare ainsi de la liqueur où il s'est formé, il est ensuite retransformé en acide phosphomolybdique, réduit et on finit par doser le bleu Phosphomolybdique ainsi obtenu.

Ce bleu Phosphomolybdique a été utilisé pour la première fois en 1887 par F. OSMOND (6) qui dosait les orthophosphates colorimétriquement après réduction du phosphomolybdate d'ammonium par le chlorure stanneux. Taylor et Miller reprirent cette méthode en 1914 en remplaçant le chlorure stanneux par la Phenyl Hydrazine. En 1920 G. DENIGES (8) en France et BELL et DOISY (9) en Amérique découvrirent qu'il était inutile d'isoler le phosphate

sous une forme insoluble, le bleu complexe pouvant se former en présence d'un excès d'ion molybdique. Le réducteur employé par Denigès est le chlorure stanneux extemporanément préparé. Bell et Doisy emploient l'hydroquinone. BRIGGS (10) en 1922 renforce l'action réductrice de l'hydroquinone par du sulfite de soude et il détermine les meilleures conditions d'acidité convenant à la formation du bleu.

BENEDICK et THEIS (11) en 1924 appliquent la méthode de Bell Doisy, Briggs en faisant former le bleu à chaud.

La méthode n'était pas encore arrivée à sa forme définitive. FISKE et SUBARROW (12) en 1925 remplacent l'hydroquinone par l'acide naphthol sulfonique dont ils combinent l'action réductrice avec celle d'un sulfite ou d'un bisulfite. Ainsi la coloration apparaît à froid en 5 minutes.

Enfin en 1927 KUTTNER et COHEN (13) redécouvrent la méthode de Denigès (Chlorure stanneux stabilisé) qui, depuis 1930, est décrite en Amérique sous le nom de Méthode de KUTTNER-LICHTENSTEIN (14).

Cet historique était nécessaire pour montrer combien sont voisines des méthodes portant des noms très différents. De plus on comprend qu'il faut éviter de désigner par un, deux ou trois noms propres une méthode dont un si grand nombre d'auteurs peut revendiquer une paternité partielle. Il me semble que le nom de *Méthode Céruléo-Molybdocolorimétrique de dosage des Phosphates* aurait l'avantage de désigner d'une façon plus précise le mécanisme de la méthode, sans que soit le moins du monde lésé un seul des chimistes qui ont contribué à son édification.

Une méthode idéale doit posséder une technique simple et donner des résultats exacts. Ces deux qua-

lités ne vont généralement pas de concert : il faut prendre de nombreuses précautions et pratiquer de délicates manœuvres pour effectuer un dosage correct. Une étude théorique de la méthode va nous permettre de déterminer parmi toutes ces précautions et ces manœuvres celles qui sont nécessaires et celles qui sont suffisantes.

CHAPITRE PREMIER

ETUDE THEORIQUE DE LA MOLYBDOCOLORIMETRIE

Dans cette étude théorique de la Molybdocolorimétrie nous allons envisager les diverses substances qui peuvent modifier d'une façon quelconque la teinte ou l'intensité du bleu phosphomolybdique. De multiples substances gênantes ont été décrites mais jamais n'a été tenté un essai de classification. Nos recherches nous ont amené à distinguer 3 groupes distincts :

- A) Substances réagissant sur l'acide molybdique.
- B) Substances réagissant sur les orthophosphates.
- C) Substances réagissant sur le bleu phosphomolybdique.

§ I. — SUBSTANCES REAGISSANT SUR
L'ACIDE MOLYBDIQUE.

Dans le premier groupe se trouvent réunis un certain nombre de composés chimiques qui comme l'acide orthophosphorique ont la propriété de donner des complexes avec le molybdène. Suivant que le dérivé réduit du complexe molybdique sera coloré en bleu ou non on pourra séparer.

1° Les corps dont le complexe molybdique réduit est un bleu complexe du molybdène.

2° Les corps dont le complexe molybdique réduit ne donne pas une coloration bleue.

I. — Les corps capables de donner au même titre que les orthophosphates un bleu complexe du molybdène sont soit :

1° *Des substances contenant du Phosphore :*

a) Pyrophosphates minéraux ;

b) Esters de l'acide orthophosphorique.

2° *Composés d'éléments divers voisins du Phosphore :*

Ce sont les Arsénates, les Antimoniates, les Silicates, les Borates, les Vanadates, les Tantalates et les Niobates.

3° *Des acides organiques. Acide oxalique.*

I. — COMPOSES CONTENANT DU PHOSPHORE ET DONNANT UN BLEU COMPLEXE DE MOLYBDENE.

a) *Acide Pyrophosphorique et Pyrophosphates.*

En 1930, HINSERBG et LAZLO (15) se contentent de noter que les pyrophosphates ne sont pas dosés par la méthode de FISKE et SUBARROW (12).

D. R. DAVIES et W. C. DAVIES (16) en Décembre 1932 signalent l'acide Pyrophosphorique parmi les substances capables de gêner ou d'empêcher la formation du bleu Phosphomolybdique. Mes recherches effectuées au cours de 1933 m'ont permis de voir que non seulement les pyrophosphates donnent un complexe avec le molybdène, mais encore un bleu complexe molybdique dont j'ai pu étudier quelques propriétés. La coloration bleue qui apparaît par réduction dans un milieu contenant des pyrophosphates a une intensité parallèle à leur concentration dans le milieu. Ce bleu diffère par ses propriétés du bleu formé en présence du P205 orthophosphérique. En particulier, dans un milieu acidifié à 30 pour cent en volume par HCl et agité avec de l'éther, ce bleu pyrophosphorique est détruit tandis que le bleu orthophosphorique passe dans l'éther. On pourrait ainsi séparer les deux bleus formés simultanément dans un même milieu. Mais cette propriété intéressante du point de vue théorique n'est d'aucune application pratique.

J'ai pu, en effet, vérifier que dans un mélange d'ortho et de pyrophosphates il se formait suivant la concentration de ces deux corps des quantités variables des deux bleus.

P ² O ⁵ ortho par litre en milligrammes	P ² O ⁵ pyro par litre	P ² O ⁵ total par litre	Variations par rapport à une sol. ne contenant que P ² O ⁵ ortho	
200	50	250	—	10 %
100	100	200	—	1 %
50	200	250		0
40	300	340	+	5 %
30	400	430	+	12 %
20	500	520	+	56 %
10	1000	1010	+	290 %

De cette expérience il résulte que :

1° Dans un milieu contenant moins de pyrophosphates que d'orthophosphates, il se forme un bleu orthophosphorique mais avec intensité de 1 à 10 pour cent plus faible que celle du bleu qui se serait formé si l'orthophosphate avait été seul.

2° Dans un milieu qui contient des quantités égales des deux phosphates ou jusqu'à cinq fois plus de pyrophosphates que d'orthophosphates, l'intensité colorante du bleu ortho n'est pas sensiblement modifiée.

3° Enfin dans un milieu qui contient 7 fois plus de pyro que d'orthophosphates, il y a addition en même temps que prédomine la formation du bleu pyrophosphorique (ce dont je me suis rendu compte en entraînant dans le chloroforme une coloration rose violacée qui s'est montrée caractéristique du bleu pyrophosphorique).

Dans une autre expérience j'ai pu en outre établir que les meilleures conditions de concentration pour l'addition des deux bleus étaient réalisées par un mé-

lange où il y avait trente fois plus de P_2O_5 pyro que de P_2O_5 ortho. Or il est intéressant de noter que séparément 2 mg 72 de P_2O_5 ortho donne une coloration identique à celle donnée par 100 mg de P_2O_5 pyro, ce qui m'amène à énoncer cette loi qui s'est montrée vraie, par la suite, dans divers cas d'addition colorimétrique que j'ai étudiées :

Si deux composés, capables isolément de donner naissance à un bleu complexe du molybdène, sont réunis dans un même milieu, ils additionnent arithmétiquement leur intensité colorante quand les deux concentrations en présence sont séparément colorimétriquement équivalentes.

Connaissant les lois de l'association Pyrophosphate plus orthophosphate nous allons pouvoir étudier ce qui peut résulter de leur présence simultanée dans les milieux Biologiques. On ne trouve pas de pyrophosphates dans le sérum, dans le plasma et dans le liquide céphalo rachidien. Par contre les globules et par conséquent le sang total en renferment une certaine quantité. D'après les chercheurs qui ont dosé les pyrophosphates : Barrenscheen (17) (1926), Eggleton (18) (1929), Roche (19) (1930) et Bomskow (20) (1932) le taux moyen des pyrophosphates dans le sang total est de 32 mg en P 0/00 (27,6 en P_2O_5). Les chiffres extrêmes donnés par eux sont 5 mg et 74 mg de P 0/00 (113 et 168,4 en P_2O_5 .)

Dans les cas normaux le rapport P_2O_5 pyro sur P_2O_5 ortho est très voisin de 1. Les pyrophosphates n'interviennent en aucune façon pour modifier le dosage.

Prenons deux cas extrêmes. Dans un premier cas supposons qu'en même temps nous ayons un Pyrophosphate très augmenté avec un orthophosphate

très abaissé. Le rapport dans ce cas pourra être : 168 sur 25 = 6,6 et dans ce cas l'erreur relative n'excèdera pas 5 pour cent par excès.

Dans un deuxième cas supposons que nous ayons (cas exceptionnel) un P_2O_5 pyro très abaissé avec un P_2O_5 ortho élevé. Dans ce cas le rapport sera vers 1/4 ou 1/6 l'erreur allant de 10 % à 20 % par défaut.

A part ce dernier cas, qui doit être considéré comme exceptionnel, on peut conclure que pratiquement les méthodes molybdcolorimétriques ne trouvent pas une cause d'erreur dans les pyrophosphates, qui peuvent seulement, dans la plupart des cas, provoquer les erreurs relatives que permettent les méthodes les plus précises.

b) *Acides glycérophosphoriques et glycérophosphates.*

Au début de 1932, GREENWALD et LÉVY (21) affirmèrent que certains dérivés organiques phosphorés réagissent sur l'acide molybdique donnant des bleus complexes du molybdène qui s'ajouteraient au bleu des orthophosphates minéraux.

En décembre 1932 BODANSKY (22) d'une part et D. R. DAVIES et W. C. DAVIES (16) d'autre part considèrent l'acide glycérophosphorique et les glycérophosphates comme une substance gênant les dosages molybdcolorimétriques des Phosphates. Davies avait même émis l'hypothèse d'un complexe glycérophosphomolybdique. Au cours de mes recherches je suis arrivé à provoquer l'apparition d'un bleu glycérophosphomolybdique qui, dans les conditions de la méthode de Denigès ne persiste qu'environ une minute après sa formation et qui, très instable, ne tarde pas à passer au vert, au vert jaune, puis au jaune franc.

Cette coloration jaune qui n'apparaît que dans les milieux très riches en glycérophosphates est d'autant plus intense que le milieu contient plus de glycérophosphates. Nous avons colorimétriquement suivie en fonction du temps l'évolution de ce bleu glycérophosphorique dans une solution de glycérophosphate de calcium à 1 pour cent.

Temps en secondes	Intensité %
0	100 %
60	150 %
120	50 %
180	25 %
240	10 %

Pratiquement au bout de 5 minutes le Bleu glycérophosphorique n'intervient plus dans le dosage par sa couleur. Il n'intervient à partir de ce moment que par la quantité d'acide molybdique qu'il garde fixée, ce qui détermine une atténuation de l'intensité du bleu phosphomolybdique qui s'est formé dans le même milieu. Nous avons fait quelques déterminations de l'atténuation produite par les glycérophosphates.

Glycérophosphate de Sodium :

P ² O ⁵ glycérique en milligr. 0/00	P ² O ⁵ orthophosphor. en milligr. 0/00	Variation
429,4	329,15	— 7 %
658,8	329,15	— 45 %
987,2	329,15	— 61 %
1317,6	329,15	— 71 %
1647,0	329,15	— 76 %

Glycérophosphate de Ca (contenant orthophosphates)

P ² O ⁵ glycérique en milligr. 0/00	P ² O ⁵ orthophosphor. en milligr. 0/00	Variation
670	8	— 11 %
1340	6	— 25 %
2010	4	— 50 %
2680	2	— 57 %

Nous poursuivons actuellement cette étude et nous ne pourrons donner des conclusions fermes qu'en possession de plus amples résultats.

II. — COMPOSES D'ELEMENTS DIVERS
VOISINS DU PHOSPHORE DONNANT
UN BLEU COMPLEXE DE MOLYBDENE

1°. *Les Arséniates*. Denigès en 1920 découvrit que les Arséniates donnaient un bleu arsénio-molybdique très voisin par toutes ses propriétés du bleu Phospho-molybdique. La formation du bleu arséniomolybdique ne paraît pas avoir été beaucoup utilisée en Chimie analytique. J'ai étudié l'équivalence colorimétrique entre Orthophosphates et ortho arséniates.

Conc. en As²O⁵ 0/00 Conc. en P²O⁵ 0/00
donnant une égale color.
(en mg. 0/00)

1 mg	0,55
2 mg	0,71
3 mg	1,03
4 mg	2,60
5 mg	3,40

Pour obtenir la même coloration il faut 1,5 à 2 fois plus d'As²O⁵ que de P²O⁵.

Les arsénates ne sont pas assez abondants dans les milieux biologiques pour être une cause d'erreur appréciable dans ce dosage. Il faudrait en effet pour qu'ils s'ajoutent aux orthophosphates qu'ils soient dans les humeurs à une concentration au moins égale à celle de ces derniers.

2°. *Les Antimoniates*. KUTTNER et COHEN (13) signalent qu'il existe une méthode molybdo colorimétrique de dosage des Antimoniates. Pour ma part je n'ai pas obtenu de Bleu antimonio molybdique. J'ai pu seulement constater que, dans un mélange d'antimoniates et d'orthophosphates mis dans les conditions de la méthode de DENIGÈS, il y avait atténuation du bleu orthophosphorique qui se formait.

3) *Les Silicates*. ISAACS (23) en 1924, décrit une méthode de dosage du silicium des tissus basée sur la production d'une coloration bleue par réduction sulfite de l'acide silicomolybdique. D'après l'auteur, cette réduction se produirait à une acidité assez faible pour que les silicates soient réduits et non les orthophosphates. Les assertions d'ISAACS ont été combattues par G. BERTRAND (24) en 1924, et défendues par FOULGER (25) en 1927. Enfin, en 1930, KING (26) faisant varier le rapport des concentrations phosphates/silicates conclut que, suivant les conditions de temps et de mélange, on a, soit addition, soit soustraction des intensités colorantes. En me plaçant dans les conditions de la méthode molybdo-colorimétrique de DENIGÈS, j'ai étudié la formation du bleu silico-molybdique. J'ai pu voir que :

a) l'intensité du bleu formé est parallèle à la concentration en silicate du milieu ;

b) le bleu formé en présence de silicate de Na acidifié à 30 % en volume par HCl et agité avec de l'éther

passé dans celui-ci donnant un éthérogel, coloré en bleu, de densité inférieure à celle de l'eau ;

c) les silicates doivent être beaucoup plus concentrés que les phosphates pour donner dans les conditions de la méthode de DENIGÈS une coloration comparable (de 1.500 à 2.000 fois plus de SiO_2 que de P_2O_5).

Pour les concentrations que nous avons étudiées, nous avons noté qu'il y avait addition des bleus formés.

Concentration du Silicate de Na en gr.	Concentration équivalente de P_2O_5 en mgr. 0/00
20 0/00	6,45
16 0/00	2,75
12 0/00	1,29
8 0/00	1,00

Conc. du Silic. en gr. °/°°	Conc. du P_2O_5 en mgr.	Expression de l'intensité color. en mgr de P_2O_5 0/00
4	4	4,30
12	2	3
16	1	3,60

L'addition se fait avec atténuation globale. C'est ainsi que, sans atténuation, on devrait avoir 3,29 au lieu de 3, et 3,75 au lieu de 3,60.

4) *Les Borates.* M. le Professeur CRISTOL (27) a décrit avec moi, en 1932, le bleu boromolybdique. Ce bleu, dont l'intensité est parallèle à la concentration des borates présents dans le milieu, passe dans l'éther si le milieu qui le contient est convenablement acidifié (20 % de HCl en volume). Cette propriété, commune à un grand nombre de bleus

conjugués molybdiques, nous a permis de le purifier et de mettre en évidence le bore qu'il contenait. Dans les conditions de la méthode de DENIGÈS, il faut 5 ou 6 mille fois plus de B_2O_3 que de P_2O_5 pour donner la même intensité colorante. Nous avons étudié le comportement d'un mélange de borate et phosphate.

Borate de Na en gr. 0/00	P_2O_5 en mgr.	Intensité colorante en mgr. de P_2O_5 0/00
4	4	3,2
12	2	2,10
16	1	1,25

Dans le premier cas, il y a atténuation du Bleu orthophosphorique formé. Dans les deux autres cas, il y a addition avec atténuation globale.

Les Silicates et les Borates ne sont pas des composés Biochimiques bien importants et ne peuvent être une cause d'erreur pour le dosage des orthophosphates minéraux. Ils peuvent le devenir, par contre, si l'on dose le Phosphore total par la méthode de Denigès. Dans ce cas, la destruction sulfo-nitrique qui se fait dans des verres à faible coefficient de dilatation, constitués par des Silicoborates, peut entraîner des quantités assez importantes de ces substances pour que le dosage en soit faussé. Il se peut, en outre que, dans ces conditions, les quantités de silicoborates entraînées soient, sous un état moléculaire, plus aptes à réagir pour donner la coloration. (A une concentration égale, un fluoborate donne une intensité colorante plus forte qu'un Borate).

5) Composés d'autres éléments

M. le Professeur P. CRISTOL (28), a, en outre, décrit avec moi, en 1932, un certain nombre d'autres composés bleus du molybdène qui sont les Bleus Vanadomolybdiques, Niobomolybdiques et Tantalomolybdiques. Cependant, les Vanadates, Tantallates et Niobates ne sont pas des constituants biologiques importants et, s'ils peuvent se rencontrer dans certains milieux biologiques, c'est à l'état de traces tellement faibles qu'ils ne peuvent intervenir.

III. — L'ACIDE OXALIQUE ET LES OXALATES

HESS et GUTMAN (29), en 1922, puis DENIS et MEYRENBURG (30), signalent l'action atténuante de l'oxalate sur le Bleu phosphomolybdique.

B. E. GILBERT et J. B. SMITH (31), en 1927, étudiant l'action des acides des bases et des sels, sur la formation du Bleu phosphomolybdique, notent que l'acide oxalique ainsi que les oxalates, donnent même à de faibles concentrations, une atténuation très sensible. GÖEBLER (32), en 1932, qui ne semble pas avoir remarqué cette atténuation, affirme que « le plasma oxalaté contient moins de Phosphore minéral que le sérum, malgré la présence du fibrinogène dans ce dernier. » DAVIES et DAVIES (16), la même année, indiquent l'atténuation par l'acide oxalique et émettent l'hypothèse d'un complexe oxalomolybdique. Or, l'acide oxalomolybdique a été décrit par BERZELIUS (33), en 1826, et R. LAUTIE (34), en 1933 dit avoir obtenu par photoréduction le Bleu oxalomolybdique correspondant à cet acide. La réduction par le chlorure stanneux ne m'a jamais permis d'ob-

tenir le bleu oxalomolybdique, mais ce bleu ayant été obtenu, nous plaçons l'acide oxalique dans ce chapitre, où il nous servira de transition.

L'oxalate de Sodium atténue l'intensité du bleu formé en sa présence.

Conc. de $(\text{CO O Na})_2$ Conc. de $(\text{CO O Na})^2$ Intens. %
dans humeur prélev. dans le milieu de réact.

en grammes par litre

0	0	100 %
2	0,08	90 %
3	0,12	83 %
4	0,16	70 %
5	0,20	57 %
10	0,40	32 %
20	0,80	jaune verdâtre
30	1,20	orange

Ce tableau est dressé pour une concentration en orthophosphates de 3 millig. de P^2O^5 0/00.

Pour obtenir une même atténuation relative dans un milieu contenant davantage d'orthophosphates, il faut une plus grande quantité d'oxalate de Na. C'est ainsi que, pour un milieu contenant 800 mg. de P^2O^5 0/00, on a le tableau suivant :

Conc. Oxalate Na Conc. Oxalate Na Intensité %
dans hum. prélev. dans milieu de réact.

0	0	100 %
2	0,08	99
3	0,12	99
4	0,16	98
5	0,20	90
10	0,40	65
20	0,80	28
30	1,20	7 (?)
saturation	1,60	2 (?)
	2,00	jaune orangé
	4,00	»
	8,00	»

L'oxalate de Sodium atténue de même l'intensité du bleu complexe de molybdène formé en présence d'Arsénates, de Silicates, de Borates, de Vanadates, de Tantalates et de Niobates. Les recherches que j'ai faites, à ce sujet, n'entrant pas dans cette étude, seront exposées ultérieurement.

II. — CORPS DONT LE COMPLEXE MOLYBDIQUE REDUIT NE DONNE PAS UNE COLORATION BLEUE

1) *Acide citrique et citrates*

DENIS et MEYRENBURG (30), notent, dès 1922, l'atténuation par les citrates.

KUTTNER et COHEN (13), signalent, en 1927, que l'acide citrique et les citrates atténuent l'intensité de la coloration du bleu phosphomolybdique. GILBERT et SMITH (31), la même année, étudiant l'acide citrique,

voit qu'il peut provoquer, suivant sa concentration des atténuations allant de 6 à 54 %. DENIGES (35), en 1928, recommande de détruire, par l'acide nitrique, l'acide citrique ayant servi à solubiliser l'ion phosphorique dans les terres et les engrais, afin de pouvoir appliquer à ce dosage sa méthode céruléo-molybdique. Enfin, en 1932, DAVIES et DAVIES (16), le signalent aussi parmi les substances gênantes. Mes expériences ont porté sur le citrate trisodique. Le citrate trisodique atténue l'intensité du bleu phosphomolybdique, qui se forme en sa présence, comme le montre ce tableau dressé pour une concentration en orthophosphates de 3 mmgr. de P^2O^5 0/00.

Concentration du Citrate Na^3		Intensité %
dans	dans	
humeur prélevée	milieu de réaction	
0	0	100 %
20	0,8	66 %
40	1,6	44 %
60	2,4	29 %
80	3,2	15 %
100	4,0	jaune verdâtre
120	4,8	jaune verdâtre
140	5,6	orangé

Le citrate trisodique possède un pouvoir inhibiteur moindre que l'oxalate de sodium. De même que pour l'oxalate, pour une concentration d'orthophosphates plus grande, il faut une plus forte concentration de citrate trisodique pour obtenir la même atténuation relative. C'est ce que nous avons étudié pour une concentration de 300 mg. de P^2O^5 %.

Concentration du Citrate Na ³		Intensité %
dans humeur	dans milieu de réaction	
en gramme par litre		
0	0,00	100 %
5	0,20	100 %
10	0,40	92 %
20	0,80	80 %
30	1,20	76 %
40	1,60	70 %
50	2,00	61 %
60	2,40	49 %
70	2,80	52 %
80	3,20	45 %
100	4,00	38 %
120	4,80	34 %
140	5,60	25 %
160	6,40	20 %
180	7,20	16 %
200	8,00	3 (?)
300	12,00	0
400	16,00	0

Le citrate trisodique atténue de même les divers autres bleus complexes du molybdène.

AUTRES ACIDES ORGANIQUES.

DAVIES et DAVIES (16) signalent que les acides pyruvique, lactique, tartrique, malique, glycolique, gênent lorsqu'ils dépassent une certaine concentration qui ne se trouve pas généralement dans les milieux biologiques. Pour ces auteurs, ces phénomènes sont dus à l'apparition de complexes dont les formules peuvent se déduire de la concentration en ces corps, nécessaire pour empêcher la formation de la colo-

ration bleue. L'action atténuante de l'acide tartrique et des tartrates avait déjà été signalée en 1927, par KUTTNER et COHEN (13).

Acide Acétique. - Acétates. - Dérivés halogènes acétiques.

Les divers chimistes ne sont pas d'accord pour définir l'action de l'acide acétique. GILBERT et SMITH (31) (1927), trouvent une atténuation par l'acide acétique. KUTTNER et COHEN (13) (1927) et DAVIES et DAVIES (16), 1932, le déclarent sans action. KUTTNER et COHEN notent qu'à une concentration de 5 % l'acide acétique fait développer en présence du réducteur une teinte pourpre. Pour les acétates, GILBERT et SMITH notent une intensification de la coloration. KUTTNER et COHEN notent une atténuation.

Pour l'acide mono-iodacétique, mono-chloracétique et mono-bromacétique, nous avons noté une atténuation. Les acides mono-iodacétiques et mono-bromacétiques, qui sont actifs à de très faibles doses (0 gramme, 2 0/00), ne sont pas préjudiciables à cette concentration à la bonne marche du dosage.

Par contre, l'acide mono-chloracétique, qui, pour être actif, doit être employé à la concentration de 4 gr. 0/00, dans les milieux biologiques, peut, à ce taux, atténuer le bleu formé dans le milieu de la réaction d'une manière assez notable.

L'acide trichloracétique atténue très nettement l'intensité du bleu. Ce fait a été signalé vers 1927, par DENIGÈS, qui note que « la désalbumination par l'acide trichloracétique conduit à des résultats très inexacts pour doser l'ion phosphorique par céruléo molybdimétrie ». KUTTNER et COHEN (1927) (13), signalent qu'à une concentration de 4 % il gêne au

maximum. BODANSKY (22) signale cette même atténuation en 1932. Nous avons déterminé l'atténuation par l'acide trichloracétique à diverses concentrations pour une même teneur en orthophosphates

(3 mg. de P_2O_5 %).

Concentr. de l'acide trichlorac.	Intensité %
0	100 %
4	98 %
8	93,3 %
12	81 %
16	75 %
20	70 %
40	40 %
60	0

De cette expérience, il résulte :

1° Que, dans un milieu contenant 8 gr. % d'acide trichloracétique, il n'y a pas formation de bleu phospho-molybdique ;

2° Que même, à 0 gr. 4 %, l'acide trichloracétique atténue sensiblement l'intensité du bleu formé ;

3° Que l'atténuation est d'autant plus importante que la concentration trichloracétique est plus grande.

Pour remédier à ces inconvénients, on peut, quand on connaît la concentration de la substance gênante :

1° Calculer l'atténuation et faire la correction ;

2° Faire former la gamme étalon dans un milieu contenant une concentration en substance gênante égale à celle que contient le milieu à doser ;

3° Augmenter la quantité du réactif molybdique proportionnellement à la quantité de substance gênante (DAVIES) (16).

Quand on ne connaît pas la concentration de la substance gênante, tout dosage correct du P inorganique devient impossible par céruléo-molybdo-colorimétrie.

§ II. — SUBSTANCE GENANTE SEMBLANT REAGIR SUR LES ORTHOPHOSPHATES

FLUORURE DE SODIUM.

GOEBLER (32), en 1932, a signalé l'atténuation du bleu phospho-molybdique, par le fluorure de sodium. Nos recherches nous ont permis, au cours de 1933, d'établir le degré et les modalités de cette atténuation. L'action du fluorure de sodium sur la formation du bleu phosphomolybdique est triple.

- 1° Il retarde la formation du bleu ;
 - 2° L'atténue ou l'inhibe suivant la concentration ;
 - 3° Stabilise le bleu qui se forme en sa présence.
- 1° *Retard dans la formation du bleu.*

En présence de FNa, le bleu se forme plus lentement et arrive plus lentement à son maximum d'intensité. Le retard est d'autant plus marqué que la concentration du Fluorure est plus forte.

Conc. de F Na dans milieu de réaction	Atténuation %	
en 0/00	2 minutes	5 minutes
0,04	— 5 %	— 3,4 %
0,08	— 13 %	— 9 %
0,16	— 20 %	— 16 %

Aux concentrations voisines de la zone d'inhibition dans un milieu contenant 300 mg. de P^2O^5 0/00, le bleu apparaît d'autant plus tard que la concentration de F Na est plus forte.

Conc. de FNa	Temps d'apparition du Bleu
Conc. de FNa	Temps d'apparition du Bleu
2 gr. à 3 gr. 0/00	30 secondes
3,2 à 3,4 0/00	60 secondes
3,6	90 secondes
3,8	160 secondes
4	après 15 minutes

2) *Atténuation et Inhibition.* — Nous avons déterminé quel était le taux d'atténuation qui correspondait aux diverses teneurs des humeurs en Fluorure de Sodium.

Concentration du F Na en grammes par litre dans :	Intensité colorante %
les humeurs	le milieu de la réaction
0	0 100 %
1 gr.	0,04 97 %
2 gr.	0,08 90 %
4 gr.	0,16 84 %
5 gr.	0,20 80 %
7 gr.	0,28 70 %
10 gr.	0,40 60 %
14 gr.	0,56 47 %
17 gr.	0,70 38 %
20 gr.	0,80 30 %

Ce tableau est vrai pour une concentration en ortho-phosphate de 32 mg. 70 (exprimé en P par litre) dans les humeurs, ce qui est la concentration moyenne du Phosphore inorganique du sang. L'humeur prélevée étant diluée au un vingt-cinquième, cette teneur correspondant à une concentration de 1 mg. 34 en P et de 3 mg. en P^2O^5 par litre dans le milieu de la réaction.

Mais si la concentration en ortho-phosphate est plus forte, il faudra une plus grande concentration de Fluorure de Sodium pour obtenir la même atténuation relative.

C'est ainsi qu'un milieu de réaction contenant 348 mg. de phosphore par litre doit contenir 2 gr. de F Na par litre pour que le bleu formé soit atténué de 53 % alors que suffisent 0 gr. 50 de F Na dans un milieu contenant 1 mg. 34 de P 0/00 pour obtenir la même atténuation. De même pour obtenir une atténuation de 70 % il faut respectivement dans ces deux milieux 2 gr. 50 et 0 gr. 80 de Fluorure de Sodium par litre.

Il est donc nécessaire d'avoir des concentrations de Fluorure de Sodium trois à quatre fois plus fortes pour obtenir dans ce milieu une même atténuation relative du Bleu formé.

Afin de pouvoir étudier d'une façon aussi exacte que possible la manière dont se conduit le Phosphore inorganique en présence de Fluorure de Sodium, nous avons été amenés à calculer l'atténuation relative que produisait une même concentration de Fluorure de Sodium pour les divers taux de Phosphore inorganique que nous avons rencontrés au cours de nos dosages.

La concentration de F Na que nous avons étudiée

est 2 gr. pour mille. Cette concentration est la concentration nécessaire et suffisante pour empêcher la coagulation et arrêter la glycolyse.

La plus grande concentration en Phosphore inorganique que nous ayons rencontrée dans les milieux biologiques étudiés, a été aux environs de 600 milligrammes par litre.

Posons X' , la valeur corrigée de $\bar{X}$ (X étant le numéro d'ordre entier ou fractionnel que prend le tube à doser dans la gamme étalon)

$$X = X' - \frac{nX'}{100}$$

$$100$$

$$n$$

$$\text{Posons : } \frac{n}{100} = c$$

$$100$$

$$X' = X$$

$$1 - c$$

n étant l'atténuation pour cent pour une concentration de Fluorure (qui est de 2 gr. 0/00 dans tous nos cas) et pour une concentration en orthophosphate donnée ;

c varie avec la teneur en orthophosphate du milieu.

Ainsi :

$1 - c = 0,900$ pour une concentration en P de 30 milligrammes par litre.

$1 - c = 0,915$ pour une concentration en P de 600 milligrammes par litre.

$1 - c = 0,908$ pour une concentration en P de 300 milligrammes par litre.

La courbe est sensiblement du premier degré. En se rapportant à cette courbe, on aura les diverses valeurs de c pour les diverses concentrations en orthophosphates.

Pratiquement :

Quand X est au voisinage de 55 prendre comme valeur de c : 0,0850.

Quand X est au voisinage de 45 prendre comme valeur de c : 0,0875.

Quand X est au voisinage de 35 prendre comme valeur de c : 0,0900.

On aura exceptionnellement à faire à de telles concentrations :

$$32 > X > 20 \quad c = 0,0950 \text{ et } 1 - c = 0,905$$

$$20 > X > 9 \quad c = 0,0975 \text{ et } 1 - c = 0,902$$

$$9 > X > 3 \quad c = 0,1000 \text{ et } 1 - c = 0,900$$

Il suffira de multiplier X' par 10,9, par 25, ou par 34,5, pour exprimer les résultats en milligrammes de P_2O_5 ou PO_4H^3 par litre.

GÖEBLER (32), signale un autre procédé : il suffirait d'ajouter $AlCl^3$ au milieu en quantité suffisante pour transformer tout FNa en AlF^3 et, ainsi, le dosage pourra normalement s'effectuer.

En terminant ce chapitre, il nous faut noter :

1°) Qu'en un milieu où il y a plus de Phosphate, il faut plus de Fluorure pour empêcher l'apparition du bleu.

2°) Une addition d'un excès de Réactif molybdi que ne permet pas de faire apparaître le bleu dans un milieu où sa formation est empêchée par le Fluorure.

3°) L'addition d'un excès de réducteur n'intervient pas non plus pour provoquer dans ce milieu la formation du bleu.

4°) Par contre, une addition de Phosphate fait apparaître le bleu eu un milieu inhibé.

Tous ces faits militent en faveur d'une combinaison Fluophosphorique, en même temps que le fait que le Fluorure inhibe la formation des bleus Arsénique, Borique, Silicique, dont les complexes fluorés sont facilement formés.

3°) *Action du Fluorure sur la stabilité du Bleu formé*

Le bleu formé en présence de Fluorure reste longtemps franchement bleu sans se troubler.

Un bleu formé en l'absence de F Na peut se troubler en deux ou trois heures. Les bleus formés en présence de F Na restent inaltérés.

*
**

§ III. — SUBSTANCES REAGISSANT SUR LE BLEU PHOSPHOMOLYBDIQUE

Le Bleu Phosphomolybdique peut être détruit par oxydation, par une trop grande acidité du milieu ou par une trop grande alcalinité.

a) *Substances oxydant le Bleu Phosphomolybdique.* — Dans un milieu contenant une assez grande quantité de Fe^{+++} et Cu^{++} (Ferricum et Cupricum), ceux-ci seront plus facilement réduits à l'état ferreux ou cuivreux que l'acide Phosphomolybdique (de même Hg^{++}). KUTTNER et COHEN (13) affirment que Fe^{+++} et Cu^{++} présents dans les milieux biologiques ne peuvent intervenir pour fausser le dosage.

A côté de cet empêchement de réduction, nous avons des oxydations vraies.

Les Hypochlorites peuvent provoquer des atténuations allant de 20 à 50 % (KUTTNER et COHEN) (13).

Enfin l'acide nitrique agit en action oxydante et en augmentant l'acidité du milieu. DENIGES, dès 1920, le considérait comme gênant.

b) *Atténuation due à l'acidité du milieu.* — C'est parmi celles-ci que doit se placer l'atténuation par l'acide chlorhydrique étudiée par Gilbert et Smith (1927) (31).

c) *Modifications produites par la trop grande alcalinité du milieu :*

D'après les expériences de DEBRAY, on sait que l'ammoniaque en excès décompose l'acide Phosphomolybdique. C'est par cette décomposition que nous pouvons expliquer les faits notés par GILBERT et SMITH (31). Ceux-ci, étudiant l'action de $\text{NH}_4 \text{OH}$ et de Na OH , notent qu'à une certaine concentration (pH 10,8 pour $\text{NH}_4 \text{OH}$ et pH 11,9 pour NaOH), il y a renforcement du Bleu. Ce fait peut être dû à la destruction de l'acide phosphomolybdique et à la formation du Bleu simple de Molybdène par réduction.

CHAPITRE II

ETUDE PRATIQUE DE LA CERULEO-MOLYBDO-COLORIMETRIE

Nous envisagerons, dans cette seconde partie comment le clinicien doit effectuer un prélèvement correct pour le dosage des orthophosphates inorganiques dans les milieux biologiques. Nous étudierons ensuite la manière dont doit être conduit un dosage des orthophosphates par céruléo-molybdo-colorimétrie.

§ I. — LE PRELEVEMENT

a) ETAT DU SUJET. — HEURE

Le taux des orthophosphates est un taux extrêmement variable. Ils constituent, comme nous l'avons dit, la fraction la plus réagissante du Phosphore en

Biologie. Les causes les plus diverses amènent des variations de la concentration en orthophosphates du sang, vers l'hyperphosphatémie ou vers l'hypophosphatémie.

Une hyperphosphatémie peut être déterminée par :

- 1°) Une alimentation riche en phosphates.
- 2°) L'exposition au soleil ou aux ultra-violets.
- 3°) Un travail musculaire (pendant 15 à 60 minutes), suivant la durée du travail, (+ 2 à + 23 %) (HALDANE (36), HAVARD et REAY (37) ;
- 4°) Un travail intellectuel (+ 200 %), KNIPPING (38) ;
- 5°) Une émotion (HEYER et GROTE) (39) ;
- 6°) Le sommeil (+ 26 %), (GOLLVITZER (40), MEIER et KRATZ (41), HAVARD et REAY (37).

Les variations physiologiques dans le sens de l'hypophosphatémie sont causées par :

- 1°) Le jeûne ou une alimentation pauvre en Phosphates ;
- 2°) Le séjour prolongé à l'obscurité (?) ;
- 3°) Le repos après un travail musculaire violent (hypophosphatémie compensatrice) ;
- 4°) Une ingestion massive d'eau. LABBÉ et FABRY-KANT (42), MERRIT et BAUER (43) ;
- 5°) Une ingestion massive de glucides. PERLZWEIG LATHAM (44), HARRØP et BENEDICKT (46), SALVER-SEEN (47).

Les orthophosphates varient de la même façon dans toutes les humeurs ; en particulier, MERRIT et BAUER (43), ont montré qu'une ingestion massive d'eau déterminait l'abaissement de la phosphatémie.

Il faudra, pour se mettre à l'abri de toutes ces variations, prélever le liquide à analyser sur un sujet à jeun, quelques heures après le réveil. Le malade doit être resté couché avant le prélèvement et n'avoir occupé son esprit à aucun travail intellectuel.

Il faudra tenir compte d'un bain de soleil pris la veille ou d'une séance d'ultra-violets.

L'heure que l'on doit choisir pour le prélèvement sera entre 9 et 10 heures du matin.

b) TRAITEMENT A FAIRE SUBIR A L'HUMEUR PRÉLEVÉE

Si l'on demande un dosage des orthophosphates dans un sérum ou liquide céphalorachidien, on ne doit s'occuper que de porter rapidement le liquide prélevé au laboratoire. Le liquide céphalorachidien y sera mis à la glacière. Le sérum sera séparé et mis à la glacière aussitôt après la rétraction du caillot. Quand on demandera un dosage sur le sang total, sur des globules ou sur le plasma, il faudra faire en sorte que le sang ne se coagule pas. Après tout ce que nous avons exposé, on comprendra qu'il n'est pas recommandable d'y joindre un des anticoagulants usuels (citrate, oxalate, Fluorures), qui empêchent le dosage d'une façon absolue si l'on ne connaît pas leur concentration exacte dans le milieu prélevé. Il ne faut pas croire non plus que l'addition de Fluorure de Sodium soit utile pour empêcher l'action des phosphatases. Nous avons pu voir que la libération des orthophosphates se fait presque aussi bien en présence du fluorure qu'en son absence.

Le noir de tyrosine est sans action sur la formation du bleu, mais ses modalités d'emploi ne sont pas actuellement bien précisées. Nous ne pouvons

rien dire de l'héparine, de l'hirudine et du Polyanetol sulfonate de Sodium qui n'ont pas été l'objet de nos expériences. La défibrination au moyen de billes de verre est le procédé le plus simple qui présente l'immense avantage de n'introduire dans le milieu aucune substance chimique, susceptibles d'intervenir par la suite sur la formation du bleu.

Il faudra donc envoyer au Laboratoire du sang convenablement défibriné, c'est-à-dire qui aura été agité pendant dix minutes après le prélèvement, quand on demandera un dosage sur sang total défibriné ou sur sérum de centrifugation. Un dosage sur le plasma pourra se faire sur sang hépariné à 0 gr. 20 0/00.

c) APRÈS LES PRÉLÈVEMENTS

Le sang doit être porté, le plus rapidement possible, au laboratoire où il doit être dosé dans le plus bref délai.

Les orthophosphates commencent par subir une diminution sensible correspondant à l'autoglycolyse suivie d'une augmentation considérable due à l'action des phosphatases globulaires.

Le dosage devra donc, dans tous les cas, être fait si possible dans l'heure qui a suivi le prélèvement.

§ II. — ÉTUDE PRATIQUE DES MANŒUVRES DU DOSAGE

a) MANIÈRE D'EFFECTUER LA DÉSALBUMINATION

La désalbumination chlorurée acétique à chaud nous semble devoir être rejetée pour les raisons que nous allons exposer.

Nous avons voulu vérifier si cette désalbumination donnait des résultats plus exacts que la désalbumination trichloracétique.

Nous avons, pour cela, étudié la formation du Bleu Phosphomolybdique dans un milieu contenant pour une même quantité d'orthophosphates des quantités croissantes d'acide trichloracétique. Nous avons noté les atténuations correspondant aux diverses concentrations dans le tableau que nous avons donné dans la première partie.

Dans une deuxième expérience, nous avons pris un même sang sur lequel nous avons fait trois prélèvements différents. Nous avons fait trois précipitations trichloracétiques en observant des conditions identiques. Le bleu qui est apparu dans les trois filtrats présentait des intensités colorimétriques égales.

Enfin, sur trois sangs différents, nous avons fait en même temps une désalbumination trichloracétique et une désalbumination chlorurée acétique.

Voici les résultats que nous avons trouvé :

	Désalbumi. Chlorurée acétique	Dés. Trichlo- racétique
Sang n° 1	21 mg. 80 0/00	19 mg. 07 0/00
n° 2	32 mg. 70	29 mg. 97
n° 3	24 mg. 52	21 mg. 80

Nous devons noter :

1°) Que les chiffres donnés par la précipitation trichloracétique sont, en moyenne, inférieurs de 2 milligrammes 75 à ceux donnés par la méthode chlorurée acétique (ce qui correspond à une infériorité de 10 % environ).

2°) Que l'atténuation donnée par l'acide trichloracétique pour sa concentration dans les conditions de l'expérience (0 gr. 4 0/00 n'étant que de 2 %, il reste pour les filtrats de défécation chlorurée acétiques, une erreur par excès de 8 %.

Cette différence pourrait donc provenir de la libération d'acide orthophosphorique à partir de ces combinaisons organiques labiles, par le chauffage que l'on fait subir au sang au cours de cette défécation.

Cet inconvénient serait, à lui seul, suffisant, pour faire rejeter une telle méthode de désalbumination.

D'autres critiques lui peuvent être faites au sujet de la qualité du bleu formé. Il faut, avant de déterminer la formation du bleu, laisser refroidir le filtrat. On s'exposerait, faute de cette précaution, à voir apparaître un trouble, qui rendrait impossible toute comparaison colorimétrique.

D'ailleurs, même un bleu formé dans de bonnes conditions, dans un filtrat chloruré acétique, n'a pas une teinte franchement bleue ; il est d'un vert jaunâtre, ne permettant pas la comparaison avec un étalon qui n'aurait pas été placé dans les mêmes conditions. Ceci entraîne de nouvelles manipulations, qui peuvent être autant d'origines d'erreur. Par contre, le bleu formé en présence d'acide trichloracétique, atténué dans son intensité, n'est pas modifié dans sa nuance, ce qui permet une comparaison colorimétrique avec une gamme étalon non spécialement préparée. Connaissant la diminution d'intensité que fait subir une quantité donnée d'acide trichloracétique, on peut, par un simple calcul, corriger cette atténuation.

Il est cependant préférable de placer l'étalon dans les mêmes conditions que le liquide à doser, ce qui, dans ce cas, peut se faire avec une très grande facilité.

b) Libération de l'acide orthophosphorique dans les filtrats trichloracétiques.

Le filtrat trichloracétique du sang ou des globules contenant 4 % d'acide trichloracétique, s'enrichit d'une façon marquée en orthophosphates minéraux, par hydrolyse du phosphore acido-soluble. Ceci a été signalé, en 1931, par CHABANIER et LOBO-ONELL (48) en France, et par H. D. KAY (49) en Amérique ; en 1933, M. SAHYUN (50) signale que l'acide trichloracétique à 10 % hydrolyse les composés phosphorés acido-solubles et insiste sur la nécessité qu'il y a à filtrer et à doser immédiatement un sang ayant subi une désalbumination trichloracétique. Les quelques dosages que nous avons effectués nous ont permis de constater le bien fondé de ces observations. Nous avons étudié l'évolution d'un filtrat trichloracétique du sang à 16°

	0 heure	24 heures	Différences
Cas I	32,7	36,2	+ 3,5
Cas II	46,10	61,20	+ 15,10
Cas III	43,6	60,49	+ 16,89
Cas IV	40,43	59,73	+ 19,30
Cas V	45,88	67,30	+ 21,42

On voit donc qu'un filtrat de sang à 16° peut accroître sa teneur en phosphates inorganiques de 10 à 40 % en 24 heures.

CHABANIER et LOBO-ONELL (48) avaient noté qu'un filtrat trichloracétique de plasma ne s'enrichissait

pas en phosphates inorganiques. J'ai pu moi-même le vérifier. J'ai, en outre, établi qu'un filtrat de sérum ne voit pas augmenter avec le temps la teneur de ses orthophosphates minéraux.

	0 heure	24 heures	Différences
Cas I	46,65	46,32	— 0,33
Cas II	34,88	34,98	+ 0,10
Cas III	43,7	45,6	+ 1,9

Les liquides pathologiques ont, de même, un filtrat qui n'évolue pas.

Liquide pleural :

	0 heure	24 heures	Différences
Cas I	41,42	43,60	+ 2,18
Cas II	50,57	50,24	— 0,33

Le filtrat trichloracétique d'un liquide céphalo-rachidien n'évolue pas davantage.

c) Précautions à prendre pour obtenir des bleus de bonne qualité.

Il arrive souvent dans les dosages par céruléo-molybdo-colorimétrie, qu'un bleu se trouble et rend ainsi toute comparaison impossible. En prenant certaines précautions, on peut arriver à rendre exceptionnel un inconvénient aussi notoire. Les causes de ce trouble sont diverses :

- 1° La mauvaise qualité du réactif sulfomolybdique.
- 2° La formation d'un bleu dans un milieu très dilué et surtout la dilution d'un bleu pré-formé ;
- 3° La formation d'un bleu dans un milieu dont la température est voisine de 50° ;

3° La présence de certaines impuretés dans le tube où se forme le bleu, par exemple éléments lourds comme le tungstène, divers alcaloïdes...

Nous avons remarqué que les troubles apparaissent souvent dans le cas du dosage d'un sang ou d'un sérum de néphritique chronique, sans qu'aucune des raisons que nous venons d'énumérer puisse être invoquée.

M. le Professeur CRISTOL attribue le trouble observé dans ce cas à l'hyperpolypeptidémie. Il a démontré, en effet, que les polypeptides sont précipités par l'acide phosphomolybdique (51).

§ III. — EXPOSE DE LA METHODE DE DOSAGE

I. — SOLUTIONS NÉCESSAIRES.

1° *Réactif sulfo-molybdique* (conservé à l'obscurité) :

Molybdate d'ammonium à 12 %

Acide sulfurique concentré

parties égales

2° *Solution de chlorure stanneux* (Cl^2Sn), préparée extemporanément :

Etain en feuille 0 gr. 10

Solution de sulfate de cuivre à 10 % 1 goutte

Acide chlorhydrique pur 2 cc.

Faire bouillir à feu doux jusqu'à dissolution de l'étain, ajouter, après refroidissement, 10 cc. d'eau distillée et filtrer.

Cette solution peut servir pendant trois ou quatre heures.

Nota. — On pourra employer aussi bien la solution stabilisée de chlorure stanneux préconisée par KUTTNER et LICHTENSTEIN (14) :

Chlorure stanneux 10 gr.
Acide chlorhydrique 25 cm³
diluer au moment de l'usage, une partie dans 200 parties d'eau.

3° *Solutions étalons:*

Solution mère de phosphate à 1 g. de P²O⁵ par litre.

Solutions n° 1 et n° 2 à 5 et 10 mmg. de P²O⁵ par litre.

II. — PRATIQUE DU DOSAGE.

1° *Désalbumination.* Mettre dans un verre à précipité :

Liquide à doser 2 cc.
Eau distillée 6 cc.
Acide trichloracétique à 20 % .. 2 cc.

Agiter, filtrer.

2° *Préparation de la gamme-étalon :*

La solution étalon employée est une solution d'orthophosphate mono-potassique ou mono-ammonique, telle qu'un litre de cette solution contient 1 gramme de P²O⁵. A partir de cette solution mère nous faisons deux solutions :

Solution n° 1 à 5 milligr. de P²O⁵ par litre (soit 0 cc. 5 de solution mère pour 100 cm³) ;

Solution n° 2 à 10 milligr. de P²O⁵ par litre (soit 1 cm³ de solution mère pour 100 cm³).

Dans des tubes Pyrex régulièrement calibrés, on mettra :

Tube 1. — Sol. n° 1 1 cc. + 4 cc. eau (soit une solution à 1 mmg. de P^2O^5 0/00).

Tube 2. — Sol. n° 1 2 cc. + 3 cc. eau (soit une solution à 2 mmg. de P^2O^5 0/00).

Tube 3. — Sol. n° 1 3 cc. + 2 cc. eau (soit une solution à 3 mmg. de P^2O^5 0/00).

Tube 4. — Sol. n° 1 4 cc. + 1 cc. eau (soit une solution à 4 mmg. de P^2O^5 0/00).

Tube 5. — Sol. n° 1 5 cc. (soit une solution à 5 mmg. de P^2O^5 0/00).

Si l'on craint que le liquide dosé ne puisse se placer entre les tubes de cette gamme, on préparera, en outre :

Tube 6. — Sol. n° 2 3 cc. + 2 cc. eau
(6 mmg. 0/00).

Tube 7. — Sol. n° 2 4 cc. + 1 cc. eau
(8 mmg. 0/00).

Tube 8. — Sol. n° 2 5 cc. + 0 cc. eau
(10 mmg. 0/00).

On ajoutera ensuite, dans chaque tube 0 cc. 2 d'acide trichloracétique à 20 %.

Nous indiquons cete manière d'opérer, car elle nous a paru la plus pratique à employer.

La solution mère est d'une très longue conservation.

Pous les solutions n° 1 et n° 2, il vaut mieux les refaire chaque semaine.

3° *Préparation des filtrats à doser.* Dans un tube exactement calibré, mettre :

Filtrat 1 cc.

Eau distillée 4 cc. 2

4° *Formation du bleu phospho-molybdique :*

Dans tous les tubes, ajouter rapidement :

a) Réactif sulfo-molybdique : IV gouttes.

Eviter de faire couler le long des parois, agiter pour bien mélanger.

b) Chlorure stanneux : II gouttes.

5° *Dosage.* Faire la comparaion au bout de 10 minutes:

Situer le tube à doser dans la gamme ;

Comparer au microcolorimètre de PELLIN avec le tube étalon le plus rapproché.

S'il est situé exactement entre deux tubes de la gamme, le déterminer par rapport à ces deux tubes.

6° *Expresion des résultats :*

Soit:

a, le numéro du tube étalon voisin ;

h, la hauteur de la colonne colorimétrique pour le tube étalon ;

x, le numéro du tube dosé ;

h' la hauteur de la colonne colorimétrique pour le tube à doser ;

$$x = \frac{a \cdot h}{h'}$$

On multiplie ensuite x par :

25, pour exprimer le résultat en mmg. de P^2O^5 ‰ ;

34,5 pour exprimer le résultat en mmg. de PO^4H^3 ‰ ;

10,9 pour exprimer le résultat en mmg. de P ‰.

DEUXIEME PARTIE

**ETUDE STATIQUE
DES ORTHOPHOSPHATES
INORGANQUES**

CHAPITRE PREMIER

TAUX NORMAL DES ORTHOPHOSPHATES INORGANQUES DES HUMEURS PHOSPHATEMIE ET PHOSPHATORACHIE

La Phosphatémie est le taux des orthophosphates minéraux contenus dans le sang total ou dans une fraction sanguine.

La Phosphatorachie est le taux des orthophosphates minéraux dans le liquide céphalo-rachidien.

Nous avons déterminé la phosphatémie normale du sang total, du sérum, du plasma et des globules.

En même temps que la phosphatorachie, nous avons étudié le chimisme hémoméningé des orthophosphates minéraux.

§ I. — ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX DU SANG TOTAL

Les orthophosphates minéraux du sang total ont été très souvent dosés, mais les résultats donnés par les divers chercheurs sont loin d'être concordants.

Ceci provient, d'une part, de la très grande mobilité des orthophosphates, et, d'autre part, des méthodes de dosage employées.

La grande mobilité des orthophosphates se manifeste aussi bien avant qu'après le prélèvement du sang.

« In vivo », la phosphatémie subit des variations importantes sous l'influence des causes les plus diverses. Il existe une nette hyperphosphatémie pendant le sommeil, après un travail musculaire ou intellectuel ou après une ingestion d'aliments riches en phosphates. Après ingestion d'une certaine quantité d'eau, de sucre, ou après une injection d'adrénaline ou d'insuline, on note une hypophosphatémie qui peut être importante (jusqu'à 60 %).

« In vitro », la phosphatémie d'un sang défibriné maintenu à la température du laboratoire diminue pendant les six premières heures pour augmenter par la suite d'une façon considérable.

Tous ces faits nous indiquent les multiples causes d'erreur qui peuvent provenir soit de l'état du sujet avant le prélèvement, soit du laps de temps qui s'écoule entre le prélèvement et le dosage.

Mais les méthodes employées, elles-mêmes, contribuent à fausser une détermination déjà délicate. Les méthodes de désalbumination, le temps de conservation des filtrats, les fixateurs ou anticoagulants ajoutés au sang, sont, comme nous l'avons vu dans la pre-

mière partie, susceptibles de modifier les résultats. La plupart de ces faits ont cependant été ignorés par les auteurs qui ont déterminé la phosphatémie. C'est ainsi que WALKER et HUNTSINGER (52) recueillent le sang sur oxalate de lithium et que JAVILLIER et FABRYKANT (60) recommandent « de recueillir le sang dans un flacon contenant quelques centigrammes de fluorure de sodium ».

Considérant toutes ces raisons, nous ne devons pas nous étonner « qu'il soit difficile de trouver dans la littérature des moyennes convenablement établies pour la phosphatémie normale » (LABBÉ et FABRYKANT) (53).

Pour illustrer cette divergence des résultats, il suffit de considérer le tableau où nous avons réuni les chiffres extrêmes des variations physiologiques de la phosphatémie donnés par les auteurs (Tableau I).

TABLEAU I

<i>Auteurs</i>	<i>Année</i>	<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
Wigglesworth et Woodrow (54)	1924	25	35
Standfort et Whealhy (55)	1925	20	
Havard et Reay (56)	1926	18	38
Brain, Kay et Marchall (57)	1928	27	36
Morel et Aalam (58)	1928	—	60
Ionesco, Matiu et Vítner (59)	1929	—	53
Walker et Huntsinger (52)	1930	30	47
Javillier et Fabrykant (60)	1931	28	44

Résultats exprimés en mg. de P par litre.

Les variations physiologiques seraient, d'après ce tableau, comprises dans de bien larges limites. Si l'on admet, sans restrictions, 18 comme limite inférieure

normale et 60 comme limite supérieure, il est très difficile de définir exactement l'hyper et l'hypophosphatémie pathologique. Mais, si nous éliminons les chiffres les plus aberrants, qui peuvent provenir de dosages effectués chez des malades, ou chez des sujets sains, dans des conditions très anormales, nous voyons que la plupart des auteurs sont d'accord pour fixer le minimum physiologique à 26 et le maximum à 45 mg. de P. 0/00.

Il est tout aussi difficile de définir la phosphatémie moyenne normale, en tenant compte des divers résultats donnés par les auteurs. Nous reproduisons ici un tableau où sont énumérés quelques moyennes et il nous est facile de nous rendre compte à première vue combien cette moyenne est vagabonde (Tableau II).

TABLEAU II

<i>Auteurs</i>	<i>Années</i>	<i>P en mg.</i> 0/00
Zucker et Gutmann (61)	1921	36
Buell M. (62)	1923	20
Lawaczek (63)	1924	47
Buckman, Minot, Daland, Weld (64)	1924	34
Standfort et Wheatley (55)	1925	30
Barrenschéen, Doleschall et Popper (65)	1926	39
Kay et Byrom (66)	1927	32
Morel et Aalam (58)	1928	45
Brain, Kay et Marshall (57)	1928	39
Ionesco Matiu et Vitner (59)	1929	44
Eggleton et Eggleton (67)	1929	30

Bullock (68)	1930	37
Walker et Huntsinger (52)	1930	38
Javillier et Fabrykant (60)	1931	37
Guest G. M. (69)	1932	34
Cayla J. et Dulcy J. (8 cas) (70)	1933	32

Le taux moyen varie, en effet, de 20 à 47

Cependant, trois auteurs seulement donnent un chiffre moyen égal ou inférieur à 20 et trois autres ont trouvé une teneur moyenne supérieure à 40.

Enfin, nous voyons que la plupart des auteurs (10) situent le taux moyen normal entre 30 et 40.

Cette situation, qui nous est indiquée par les travaux les plus nombreux et les plus récents, nous semble devoir être admise comme très probable.

Nous avons effectué un certain nombre de déterminations de la phosphatémie, en opérant de la façon suivante :

Le sang est prélevé vers les 9 heures du matin. Le sujet est à jeun, depuis le dernier repas de la veille (19 heures). On recueille le sang dans un flacon contenant des billes de verre ; on doit prélever au moins 6 centimètres cubes. La défibrination se fait par une agitation de 10 minutes. Le sang est aussitôt porté au laboratoire, s'il n'est pas dosé dans l'heure qui suit, on doit le mettre à la glacière où il ne devra pas attendre plus de 3 ou 4 heures.

Les dosages que nous avons effectués ont été terminés dans l'heure qui a suivi le prélèvement.

Etant dans un milieu hospitalier, nous n'avons guère eu l'occasion de déterminer la phosphatémie chez des sujets sains, nous avons cependant pu réunir quatre cas.

Adultes sains (Cliniques St-Eloi, 1932)

N° du Laboratoire	mg. en P 0/00	en PO ⁴ H ³
627	27,00	85,92
659	43,70	138,09
658	34,80	109,96
660	33,30	105,22

La moyenne est de 34,7, exprimée en P 0/00 (109,7 en PO⁴H³).

Cette constatation s'accordant avec la détermination du plus grand nombre des auteurs, nous nous permettons de situer la moyenne normale du taux de la phosphatémie à 35 mg. de P 0/00 ou 110 mg. de PO⁴H³.

Nous devons rapprocher de ces dosages ceux que nous avons effectués chez des malades dont la phosphatémie ne nous a pas semblé modifiée.

BRONCHITES ET GRIPPES SAISONNIÈRES CHEZ ADULTES

(Hôpital général Montpellier, 1931)

	en P 0/00	en PO ⁴ H ³
1. A. F.	24,52	77,48
2. B. B.	27,25	86,11
3. G.	44,05	142,35
4. Tar.	31,70	100,17
5. Bo.	29,97	94,70
Moyenne	31,69	100,16

SUJETS PORTEURS DE TUMEURS MALIGNES

(C. A. C. Montpellier, 1933)

J. CAYLA et J. DULCY (70)

Epithéliomas Malpighiens :

	en P 0/00	en PO ⁴ H ³
1. Mme L. (81ans)	40,87	129,14
2. (apr. curiethérapie)	31,10	98,27
3. M. N.	29,97	94,70
4. M. R. (41 ans)	34,06	107,62
5. (apr. curiethérapie)	38,15	120,55
6. Mme G. (81 ans)	34,06	107,62
7. Mme D. (72 ans)	34,06	107,62
8. (apr. curiethérapie)	29,97	94,70

Epithéliomas spinocellulaires :

	en P 0/00	en PO ⁴ H ³
9. M. B.	29,97	94,70
10. (apr. curiethérapie)	40,97	129,14
11. M. C. (71 ans)	38,15	120,55
12. (apr. curiethérapie)	35,42	111,92
13. M. G. (66 ans)	35,40	111,00

Epithélioma branchial

	en P 0/00	en PO ⁴ H ³
14. M. S. (66 ans)	27,52	86,96
15. (apr. curiethérapie)	34,06	107,62
16. M. G. (66 ans)	32,02	101,18

Epithéliomas cylindriques (col utérin) :

	en P 0/00	en PO^4H^3
17. M. C. (70 ans)	29,97	94,70
18. (apr. curiethérapie)	32,70	103,33
19. Mme M. (43 ans)	49,90	156,42
20. (apr. curiethérapie)	45,90	145,04
21. Mme A. (57 ans)	31,34	99,02

Le taux moyen de la phosphatémie chez les sujets porteurs de tumeurs malignes est de 35 mg. 47 de P 0/00 (112 mg. de PO^4H^3 0/00), ce qui nous permet d'affirmer que la phosphatémie n'est pas modifiée chez les cancéreux (J. CAYLA et J. DULCY) (70).

DIABÉTIQUES

(Cliniques St-Eloi, Montpellier, 1932)

	Glycémie	P 0/00	PO^4H^3 0/00
1. P. L. (h.)	4,02	43,60	137,77
2. C. J. (f.)	3,90	54,50	172,22
3. P. L. (h.)	3,05	26,97	85,22
4. G. (h.)	2,37	32,70	103,33
5. H. (h.)	2,20	30,65	96,85
6. P. O. (f.)	2,14	32,70	103,33
7. G. (h.)	2	38,15	120,55
8. L. H. (h.)	1,98	29,00	91,64
9. X. (h.)	1,80	26,10	82,47
10. B. C. (h.)	1,27	27,00	85,32
Moyenne		34,04	107,56

Avec ELIAS et WEISS (75), JAVILLIER et FABRYKANT (60), BYRON (76), nous sommes amenés à conclure que la phosphatémie est normale chez les diabétiques. Nos dosages nous indiquent que les phosphatémies les plus élevées correspondent aux glycémies les plus élevées ; peut-être est-ce là une simple coïncidence.

DÉMENTS PRÉCOCES

Service Dr Pagès, Font d'Aurelle, 1933)

	en P 0/00	en PO^4H^3
1. Tab.	30,00	94,86
2. Tei.	31,00	97,96
3. Le	27,30	86,26
4. Bo.	24,50	77,42
5. Du.	27,50	86,90
6. Des.	35,60	112,49
7. Cha.	29,70	94,00
8. V. T.	37,00	116,92
9. Fe	32,90	103,96
10. Ca.	35,90	113,44
11. Bof.	38,20	120,70
12. Tri.	41,96	132,00
13. Lo.	36,60	115,60
14. Car.	33,64	106,30
15. Carb.	45,00	142,20
Moyenne	33,85	107,00

Ici encore nous trouvons une phosphatémie normale. Si nous prenons ces 55 dosages de la phosphatémie effectués chez des adultes sains ou malades, nous trouvons une moyenne générale de 34 mg. 26 de P 0/00 (108 mg. en PO^4H^3). *Nous concluons de l'ensemble de nos dosages que le taux moyen de la phosphatémie normale est très voisin de 35 mg. de P par litre (110 mg. de PO^4H^3).*

Les chiffres extrêmes sont 24,50 (Bronchite grip-pale, Démence précoce) et 54,50 (Diabète avec forte hyperglycémie). Ces deux chiffres ne peuvent être considérés que comme des chiffres pathologiques. Les limites moyennes de variations physiologiques qui doivent être admises sont 30 et 40 ; les limites extrêmes, 25 et 45.

En pratique. Entre 30 et 40 la phosphatémie est normale ;

Entre 30 et 25, il y a légère hypophosphatémie ;

Entre 40 et 45, il y a légère hyperphosphatémie.

Mais la loi que nous venons d'énoncer n'est valable que pour un sang veineux prélevé chez des adultes des deux sexes dans les conditions que nous avons indiquées.

La Phosphatémie nous semble présenter un taux identique chez l'homme et chez la femme.

Auteurs	Hommes	n° du cas	Femmes	n° du cas
Javillier et				
Fabrykant	36,8	12	35,8	4
Personnel-				
lement	34,0	42	35,6	10

Par contre, il faut noter que le sang veineux est plus riche de 3,3 % en orthophosphate minéraux que le sang artériel (Hoff.) (77). Le CO² du sang veineux étant capable pour LAWACZECK (63) de déterminer l'hydrolyse de certains composés phosphorés organiques. Le sang artériel aurait donc une phosphatémie voisine de 33 ou 34 m de P 0/00.

Variations chroniques. — Nous groupons dans ce chapitre toutes les variations de la phosphatémie qui sont fonction du temps.

1°. *Variation de la phosphatémie au cours de la journée.* Au cours des 24 heures la phosphatémie passe par deux maxima. L'un est à 12 heures, l'autre à 14 heures. A ces moments la phosphatémie est de 13 à 16 % supérieure à la phosphatémie du matin (Harvard et Reay) (56).

2°. *Variations de la Phosphatémie au cours des saisons.* La phosphatémie passe par un maximum en

juin-juillet (42 à 44 mg de P 0/00) et par un minimum en mars-avril (33 à 36 mg. de P 0/00) (Hess et Lundagen) (78).

3°. *Variations de la Phosphatémie au cours de la vie.* La phosphatémie n'a pas le même taux aux divers âges. Le taux moyen normal de la phosphatémie chez les nourrissons et les jeunes enfants est nettement supérieur au taux de la phosphatémie chez l'adulte. Si nous rassemblons les chiffres donnés par les deux auteurs, de la phosphatémie normale des enfants de 1 à 10 ans, nous voyons que tous s'accordent pour la reconnaître élevée.

Auteurs	Année	Min.	Max.	Moy.
Hess et Guttman (71)	1922	40	68	
Anderson G. H. (72)	1923	40	66	
Bullock J. K. (68)	1930			51
Heyman W (73)	1930	35	64	48
Bloch et Faber (74)	1931	56	71	

Ils ne s'accordent guère par contre pour fixer le taux de cette élévation.

Le maximum donné est 71 et le minimum 31 par Jones et Nye (79) (1921). Cette limite physiologique est trop élastique aussi nous préférons prendre comme marge des variations physiologiques de la phosphatémie de l'enfant de 1 à 10 ans, 35 comme minimum et 65 comme maximum.

Le chiffre moyen normal étant très voisin de 50 c'est du moins à ces conclusions que nous amènent un travail inédit que nous sommes en train de faire avec M. Boucomont.

Cependant, nous n'avons pas par ces moyennes une représentation exacte des variations des orthophos-

phates inorganiques du sang total avec l'âge. Il faut pour serrer les faits de plus près distinguer 2 périodes pendant la croissance :

Dans une première période qui va de la naissance au début du quatrième mois la Phosphatémie croît régulièrement.

Le taux de la phosphatémie donnée par Heyman (73) pour cette période est de 35 à 38 mg chez les enfants de 28 à 30 jours. Bullock (68) pour 13 cas donne une moyenne de 48 mg. de P 0/00.

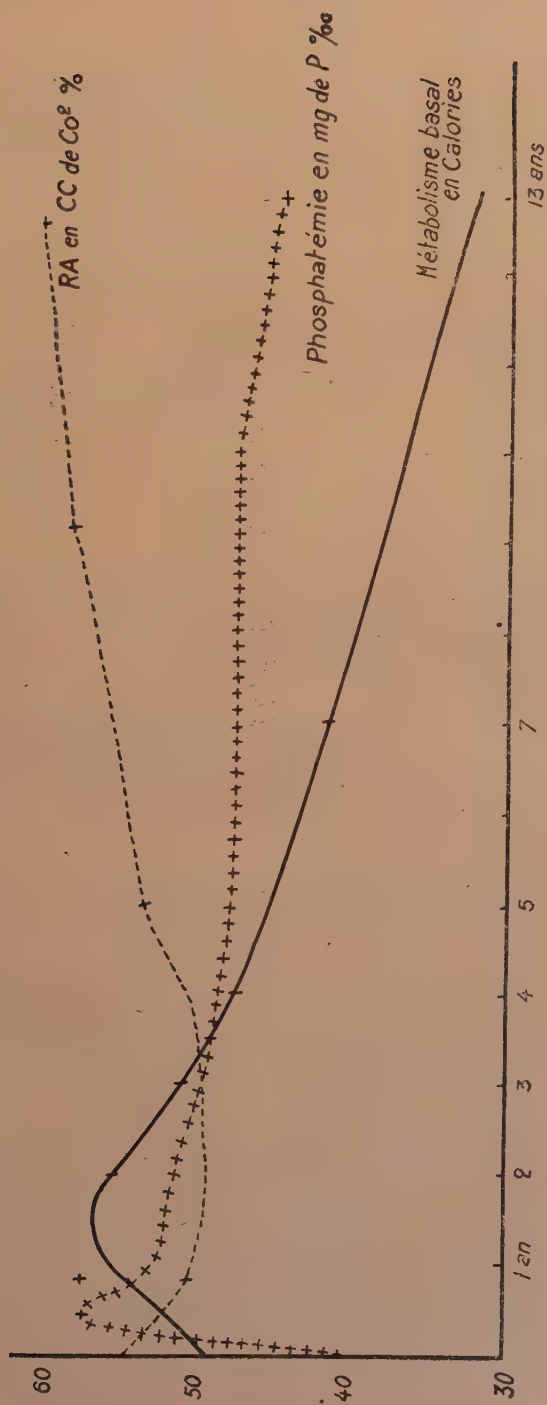
Dans une deuxième période qui commence vers le cinquième mois la phosphatémie étant passée par un maximum (57,60 Bullock) décroît à peu près régulièrement jusqu'à la fin de la croissance du squelette (20-22 ans).

Il est intéressant de rapprocher cette évolution des orthophosphates pendant la croissance, de l'évolution du métabolisme basal étudiée par Talbot (80) et de la réserve alcaline étudiée par Chaptal (81).

La valeur du métabolisme basal augmente après la naissance, atteint son maximum vers la fin de la première année et décroît ensuite lentement jusque vers la 15^e année. La Réserve alcaline assez élevée à la naissance décroît jusque vers la deuxième année passe par un minimum pour augmenter ensuite jusqu'à l'âge adulte.

La Phosphatémie aurait une évolution parallèle à celle du métabolisme basal et inverse de celle de la réserve alcaline (*Voir courbe n° 1*).

La croissance osseuse étant terminée la phosphatémie marque une brusque chute (de 44 à 37 Bullock) et semble à partir de ce moment rester constante. C'est du moins ce que nous pensons contrairement à Labbé et Frabrikant qui affirment « que la phosphat-



témie décroît ensuite graduellement jusqu'à la vieillesse ». Nous avons eu l'occasion de déterminer le taux de la Phosphatémie chez 5 sujets ayant 70 ans et au-dessus.

	en P 0/00	en PO^4H^3 0/00
Mme L. 81 ans	40,87	129,14
Mme G. 81 ans	34,06	107,62
Mme D., 72 ans	34,06	107,62
M. C. 71 ans	35,42	111,92
Mme C. 70 ans	30,00	94,70
Moyenne	34,87	110,08

Leur phosphatémie est parfaitement normale et même très légèrement supérieure à celle que nous donnons pour les adultes normaux.

Le grand nombre des influences capables de faire notablement varier le taux de la phosphatémie ont fait douter de la valeur de ce dosage du point de vue diagnostique. Certains auteurs semblent s'étonner de ce que des déterminations du P minéral effectuées à un mois d'intervalle dans des conditions identiques aient donné des résultats différents.

Cependant nous pouvons dire d'après nos dosages et nous sommes en cela d'accord avec ceux qui ont étudié la question que malgré les variations observées, un norphosphatémique reste norphosphatémique au cours de ces divers dosages et qu'un Hypo ou Hyperphosphatémique ne voit pas changer son état du jour au lendemain. Nous devons noter de plus qu'il en est de même pour l'Azotémie dont la valeur diagnostique est des moins discutée, 2 dosages effectués à 8 jours d'intervalle donnent exceptionnellement le même chiffre.

Ce qui importe donc du point de vue diagnostique c'est de faire exécuter plusieurs dosages de la Phosphatémie à quelques jours d'intervalle en observant les précautions que nous avons signalées et ainsi on pourra, sans être l'esclave d'un chiffre, interpréter logiquement un résultat.

Pour terminer nous donnerons le tableau suivant qui servira de définition aux mots Phosphatémie, Hyper et Hypophosphatémie dans le sang total.

Phosphatémie normale

	en P	en P^2O^5	en PO^4	en PO^4H^3
Adultes 35 mg. 0/00		80	107	110
Enfants 50 mg.		114	153	158

Hypophosphatémie

Adultes < 25 mg.		57	77	78
Enfants < 30 mg.		68	92	95

Hyperphosphatémie

Adultes > 45 mg.		102,15	138	142
Enfants > 65 mg.		147,55	199	205

§ II. — ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX DU
SÉRUM.

1°. - *Sérum de Rétraction spontanée.*

Après tout ce que nous venons de dire sur la mobilité des orthophosphates minéraux il semblerait qu'un dosage de ceux-ci dans un sérum soit dépourvu de toute rigueur scientifique quand il s'agit de déterminer l'état Phosphatémique d'un sujet.

Nous allons voir cependant que cette opinion n'est pas tout à fait valable et que s'il est vrai que la phosphatémie du sang total lui est évidemment préférable,

on peut invoquer en faveur de la Phosphatémie du sérum une assez grande exactitude et des avantages pratiques incontestables. Or, si pour la recherche on n'hésite pas à accumuler des manœuvres pour obtenir des dosages aussi précis que possible, en clinique il suffit souvent d'un résultat suffisamment approché d'une obtention plus facile.

Pour effectuer une détermination correcte de la Phosphatémie d'un sérum, il faut prendre certaines précautions. Le sang recueilli, on doit attendre la réaction du caillot ; dès que celui-ci est rétracté, le sérum est aussitôt séparé, et peut être par la suite conservé en tube bouché à la glacière pendant très longtemps, sans que sa teneur en orthophosphates varie sensiblement. Une phosphatémie effectuée sur un sérum traité d'une telle façon donne des résultats suffisamment approchés.

Nous avons, pour nous en rendre compte, effectué des dosages sur le sang total défibriné et sur le sérum d'un même sang,

	Sérum	Sang total	Différence
1 R. Fo 30	30,40	28	+ 2,4
2 M. Mo	31,10	32,96	— 1,86
3 Bech 1	34,06	33,00	+ 1
4 R. Fo 6	49,50	45,54	+ 4
5 Vi. 9	55,00	46,34	+ 8,66

D'après ce tableau on peut voir que les résultats sont parfaitement concordants pour les phosphatémies normales. Les résultats sont beaucoup moins satisfaisants pour les phosphatémies élevées, les erreurs étant comprises entre 8 et 20 %. Mais dans ce cas là cependant une Hyperphosphatémie constatée dans le sérum correspond bien à une Hyperphosphatémie du sang

total et cliniquement le fait importe toujours plus que le chiffre.

Il est cependant regrettable que nous n'ayons pas d'expérience portant sur une hypophosphatémie ce qui nous limite à conclure qu'une phosphatémie normale dans le sérum, correspond à une phosphatémie normale dans le sang. Une phosphatémie anormale demanderait pour plus de précision qu'une détermination soit par la suite faite dans le sang total.

Les avantages pratiques d'un dosage de la phosphatémie du sérum sont considérables.

Un sérum laissé en présence du caillot s'enrichit en orthophosphates inorganiques.

Sérum séparé du caillot 2 heures après le prélèvement 32 mg. 00 tenant en suspension des globules.

déposés spontanément	32,00
----------------------	-------

centrifugés	32,00
-------------	-------

72 h. après prélèvement

Sérum séparé du caillot à la glacière	32,15
---------------------------------------	-------

Sérum séparé à 15°	33,00
--------------------	-------

Sérum resté en présence du caillot (15°)	130,80
--	--------

96 h. après prélèvement.

Sérum en présence du caillot 15°	261,66
----------------------------------	--------

(caillot se désagrège)

Sur un même sérum :

2 h. après le prélèvement	40,54
---------------------------	-------

8 h. à 0°	40,87
-----------	-------

8 h. à 16°	40,87
------------	-------

8 h. à 36°	42,51
------------	-------

On peut donc affirmer que les variations de la phosphatémie dans un sérum séparé du caillot ne sont pas sensibles et que même à la température du laboratoire la libération en orthophosphates n'est pas très consi-

dérable. Cela, comparé à ce qui se passe pour le sang total, réduit d'une façon étrange les précautions à prendre.

De plus, alors que dans un filtrat trichloracétique de sang total il se fait une libération rapide d'orthophosphates, dans un filtrat de sérum il n'y a pour ainsi dire pas de libération, ce qui permet, une fois le filtrat recueilli, de le conserver pour faire en même temps toute une série de dosages.

Donc aussi bien pour les résultats qu'elle donne que par la simplification de la technique la Phosphatémie du sérum présente un réel intérêt clinique.

La Phosphatémie du sérum a d'ailleurs été déterminée par un grand nombre d'auteurs.

Adultes	Min.	Max.	Moye°
Marriott et Hessler 1917 (82)	10	35	-
Howland et Kramer 1921 (83)	-	-	21 mg.
Tolstoï 1923 (84)	27	34	-
Salversen et Linder 1923 (85)	-	-	38
Peters et Van Slyke 1931 (86)	20	50	35

Les variations sont assez notables d'un auteur à l'autre. Les limites physiologiques seraient 10 et 50. La moyenne serait voisine de 31 mg. de P 0/00. Nous avons nous-même effectué un certain nombre de dosages chez des adultes qui ne nous paraissaient pas devoir posséder une phosphatémie modifiée.

Hôpital général (Montpellier 1931-32)

	Azotémie, P en mg 0/00	
N° 1 - G.	0,40	37,90
2 - Po...	0,50	38,10
3 - Bou...	0,30	30,00
4 - G.	0,45	29,97
5 - Si. V.		35,42
6 - G.	0,40	25,20
7 - R. Fo.	0,36	30,40
8 - M.	0,55	31,10
9 -	0,40	32,70
10 - Ch.	0,24	34,88
Moyenne		32,56

Le taux moyen de la Phosphatémie est d'après nos dosages de 32 mg. de P 0/00.

Nos chiffres extrêmes physiologiques étant 25 et 38,10 nous admettons comme limites de variations physiologiques 25 et 40.

Cela est vrai pour l'adulte ; pour l'enfant, on a trouvé une phosphatémie du sérum sensiblement plus élevée que pour l'adulte.

	Min.	Max.	Moy.
Howland et Kramer, 1921 (83)	45	68	54
Meysenburg, 1922 (87)	41	58	50
Gyorgy, 1928 (88)	42	65	52
Peters et V. Slyke, 1931 (86)	40	70	

On voit donc que la phosphatémie du sérum des enfants est comprise entre 40 et 70, avec 52 comme moyenne.

Chez le vieillard, la phosphatémie serait basse, telle est du moins l'opinion de Tolstoï (84), qui situe le

taux moyen de la phosphatémie du sérum chez les sujets de plus de 70 ans, entre 25 et 35.

Notons, pour terminer, que les orthophosphates minéraux du sérum normal sont entièrement ultrafiltrables (RONA et TAKAHASHI [89], CUSHNY, NEHAUSEN et PINCUS [91]).

Dans le sérum de rétraction :

	P	PO ⁴ H ³
	en milligr. par litre	
<i>Phosphatémie normale du sérum :</i>		
Adultes =	32	101
Enfants =	52	164
<i>Hyperphosphatémie :</i>		
Adultes >	40	126
Enfants >	70	220
<i>Hypophosphatémie :</i>		
Adultes <	25	79
Enfants <	40	126

2° Sérum de centrifugation.

A côté de ce sérum séparé par rétraction spontanée du caillot, on doit placer le sérum séparé par centrifugation.

a) Cette centrifugation peut porter sur un sang défibriné. La céruléo-molybdo-colorimétrie doit, de préférence, s'appliquer à des sangs où aucune substance étrangère n'a été ajoutée. C'est pour cette raison que j'ai effectué un grand nombre de mes dosages sur du sang défibriné. Le sérum qui en est séparé se rapproche, du point de vue de sa teneur en orthophosphates minéraux, beaucoup plus du plasma que du sérum de rétraction spontanée.

b) On peut aussi, dans certaines expériences, centrifuger du sang, dans un vaisseau ou dans un réci-

pient paraffiné ; on sépare ainsi les globules d'un plasma dans lequel ne tarde pas à se former un caillot de fibrine et on a aussi d'une autre façon, un sérum de centrifugation.

Ces sérums de centrifugation se rapprochent du plasma parce que le temps de contact entre eux et les globules est réduit au minimum et que la diffusion des orthophosphates globulaires n'a pas le temps de s'effectuer. On doit, en outre, noter que l'absence de fibrine importe peu pour un dosage d'orthophosphates minéraux, sa présence ou son absence ne modifiant en rien leur taux.

C'est pour ces raisons qu'avec divers auteurs nous nous sommes permis d'étudier le chimisme hémoméningé et quelques rapports globulo-plasmiques avec du sérum de centrifugation.

Nous avons déterminé la teneur en orthophosphates dans un certain nombre de sérums après centrifugation du sang défibriné.

DÉMENTS PRÉCOCES

Sérums de centrifugation (après défibrination)

(Font d'Aurelle, 1933)

Noms	en P	en PO^4H^3
Dis.	20,60	65,09
V. T.	28,80	91,01
F.	20,90	66,04
Cas	23,80	75,21
Bo.	30,00	94,8
Tri.	30,00	94,8
Lo.	27,65	87,37
Carl.	26,50	83,74
Barb.	31,00	97,96
Chab.	30,00	94,8

Moyenne (10 cas) : 27 mg. 0/00.

Dix adultes qui, au point de vue humoral, pouvaient être considérés comme normaux, nous donnent une phosphatémie moyenne de 27 mg. 0/00, et, comme limites extrêmes, 20 et 31. Nous n'avons pas effectué de dosages sur des adultes normaux, nous l'avons, par contre, effectué chez des enfants normaux :

	en P	en PO^4H^3
	en mg. par litre	
n° 1, entre 6 m. et 18 m.	49,81	157,40
n° 2	52,32	165,33
n° 3	58,33	184,32

Dans le sérum de centrifugation du sang de vaisseaux ombilicaux, BRAIN, KAY et MARSHALL (57) trouvent une phosphatémie moyenne de 55 mg. 0/00.

Nous voyons que, chez l'enfant, la phosphatémie est un peu plus nettement élevée dans le sérum de centrifugation que dans le sang total et aussi élevée que dans le sérum de rétraction spontanée.

§ III. — ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX DU PLASMA

Malheureusement, la plupart des dosages des orthophosphates du plasma, qui ont été effectués par une méthode céruléo-molybdo-colorimétrique, ont été faits sur des plasma provenant de la centrifugation d'un sang oxalaté ou citraté. Quelques auteurs seulement ont employé du sang hépariné à 0 gr. 2 0/00. Les dosages de la phosphatémie du plasma sont très nombreux. C'est ce dont on peut se rendre compte, en considérant les tableaux que nous avons dressé :

Auteurs	Année	Moy. en P mg	Min. 0/00	Max.
Bloor (92)	1918	31	19	43
Zucker (61)	1921	35		
Howland (83)	1921	21		
Jones et Nye (79)	1921	28	19	47
Kellip M. (93)	1921	34	22	43
Tolstoï (84)	1923		24	33
Buell (62)	1923	30		
Wigglesworth (54)	1924		25	35
Buckmann (64)	1924	33		
Standford (55)	1925	29		
S. E. Kerr (94)	1926	36	27	52
Florence (95)	1928	29		
Brain (57)	1928	45		
Javillier, Fabrykant (60)	1931	33		

Les chiffres extrêmes des variations physiologiques donnés par les auteurs sont : 19 comme minimum et 52 comme maximum. Ces limites doivent être considérées comme un peu larges et 20 et 35 sont, à notre avis, des limites suffisantes.

Pour le chiffre moyen dans le plasma nous voyons que quatre auteurs le situent au-dessous de 30, deux seulement le placent au-dessus de 35, les six autres le placent entre 30 et 35 ; c'est probablement dans ces limites qu'il est situé.

Nos dosages effectués sur les plasmas d'adultes normaux ne sont pas assez nombreux pour que nous en puissions tirer des conclusions fermes. Nos dosages ont porté sur six cas. Le sang était exactement fluoré à 2 gr. 0/00. Nous avons calculé la correction, comme nous l'avons indiqué dans la première partie.

		mg. de P 0/00
n° 1	Norm.	22,88
n° 2	Norm.	26,18
n° 3	Hernie	24,72
n° 4	Déments précoces	26,00
n° 5	Déments précoces	27,00
n° 6	Déments précoces	23,00
moyenne		25 mg. de P 0/00

Il peut se faire que nous soyons tombé sur six cas présentant une hypophosphatémie physiologique. Cependant, ces quelques dosages exécutés avec la plus grande rigueur, nous feraient incliner à situer la phosphatémie plasmatique moyenne entre 25 et 30.

Notons que ce chiffre est très rapproché de celui que nous a donné notre moyenne dans le sérum de centrifugation.

Le plasma masculin contient autant d'orthophosphates minéraux que le plasma féminin. JONES et NYE (79) donnent une teneur de 28,71 pour jeunes gens et de 27,82 pour jeunes filles. Les enfants ont, par contre, à l'état normal, une nette hyperphosphatémie plasmatique.

	Moy.	Min.	Max.
Kellips, Young et Bloor (96)	30	12	44
Jones et Nyes (79)		29	43
Wills (97)	48	41	61

La phosphatémie plasmatique moyenne chez l'enfant paraît voisine de 45, avec variations physiologiques de 30 à 50.

Les vieillards, par contre, présenteraient, d'après Tolstoï, une hypophosphatémie plasmatique.

Sujets de 60 à 70 ans : 28 à 30 mg. de P 0/0

Au-dessus de 70 ans : 24 à 30 mg. de P 0/00

En résumé, la phosphatémie plasmatique moyenne normale est :

• Chez un adulte : 30 mg.

Chez un enfant : 45 mg.

Il y a hyperphosphatémie plasmatique :

Chez un adulte, si P mg. 0/00 > 35

Chez un enfant, si P mg. 0/00 > 55

Il y a hypophosphatémie plasmatique :

Chez un adulte, si P mg. 0/00 < 20

Chez un enfant, si P mg. 0/00 < 30

§ IV. — ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX

DES GLOBULES

ET REPARTITION GLOBULO-PLASMATIQUE

DES PHOSPHATES A L'ÉTAT NORMAL

L'étude des orthophosphates minéraux globulaires ne peut être séparée de l'étude de la répartition globulo-plasmaticque des phosphates. C'est pour cette raison que nous réunissons ces deux études dans un même paragraphe.

Les avis des chercheurs sont partagés au sujet de la phosphatémie globulaire. MARY V. BUELL (62) a soutenu, en 1923, que tout le phosphore minéral dosé dans les globules, provient de l'hydrolyse « in vitro », des combinaisons organiques phosphorées des hématies. On ne saurait admettre sans restrictions une telle théorie.

M. V. BUELL a surtout fait des dosages sur le chien et n'apporte, à l'appui de son affirmation, que

deux ou trois dosages effectués chez l'homme. De plus, usant d'une méthode néphelométrique, un grand nombre de ces dosages ont été fait sur du sang oxalaté. Or, quand on connaît l'existence de l'acide oxalomolybdique, on peut se demander s'il ne se forme pas de l'oxalomolybdate de strychnine en même temps que du phosphomolybdate, pouvant produire une atténuation du trouble dû à ce dernier.

Les deux expériences suivantes de Mary BUELL semblent justifier cette hypothèse.

Sang total

N° des échantillons d'un même sang	Oxalate de Na ajouté en mg.	PO ⁴ H ³ 0/00
1	0	16,6
2	20	15,5
3	40	15,0
4	80	14,2

Plasma

N° des échantillons d'un même plasma	Oxalate de Na en mg	PO ⁴ H ³ 0/00
1	0	16,7
2	10	15,2
3	40	13,3

Il semble donc que nous ne puissions reconnaître à ces expériences la valeur d'une démonstration absolue. Et, même en admettant que l'on puisse prouver qu'il n'existe pas normalement « in vivo », des orthophosphates minéraux libres dans les globules, il y existerait des dérivés organiques qui le

libèreraient avec une si grande facilité, que ce ne serait pas une grosse erreur d'admettre l'existence d'orthophosphates minéraux globulaires.

Par contre, certains auteurs, comme BLOOR (92), MAC KELLIPS de YOUNG et BLOOR (96), JONES et NYE (79), trouvent une phosphatémie globulaire très élevée, comprise entre 50 mg. et 58 mg. de P 0/00 chez l'adulte (BLOOR), et de 37 à 45 chez l'enfant (JONES et NYE, MAC KELLIPS DE YOUNG et BLOOR), ces chiffres, qui nous paraissent très élevés, peuvent s'expliquer aisément.

Nous savons actuellement qu'un filtrat trichloracétique de sang total ou de globules s'enrichit avec le temps en phosphate minéral, qui provient de l'hydrolyse acide des composés phosphorés acidosolubles. Il se peut que ces auteurs aient laissé s'écouler un certain temps entre la filtration et le dosage, et ainsi s'expliqueraient ces chiffres trop élevés. Si nous faisons abstraction de ces dosages, sujets à caution, l'ensemble des auteurs s'accordent pour trouver des quantités égales de phosphates dans le plasma et les globules :

	globules	plasma	g./
Bloor, 1918, femmes (92)	53	36	1,47
hommes	58	38	1,52
Mary V. Buell, 1923 (62)	9	30	0,30
Zucker et Gutman, 1921 (61)	37,5	35	1,07
Wigglesworth et Woodrow 1924 (54)	32	31,6	1,01
Buckman, Minot et Daland, Weld, 1924 (64)	32	33	0,96

Standford et Wheattley (55)	22	29	0,75
Kerr S. E., 1926 (94)	24,5	33,5	0,73
Braim Kay et Marshal, 1928			
(57)	33	45	0,73

Sur ces six auteurs, trois le trouvent égal à 1 et trois légèrement inférieur à 1.

Nous avons effectué trop peu de dosages sur des adultes sains pour pouvoir nous faire une opinion personnelle à ce sujet. Nous avons réuni trois dosages. Le sang était fluoré exactement à 2 gr. 0/00. Le dosage a été terminé dans l'heure qui a suivi le prélèvement.

Cas	globules	plasma	G/P
N° 1, normal	27,52	26,18	1,05
N° 2, normal	26,51	22,88	1,15
N° 3 herniet simple	32,23	24,72	1,30
Moyenne	29,00	24,60	1,17

Il nous semble donc qu'on puisse affirmer, malgré les divergences signalées, que le taux des orthophosphates est sensiblement le même dans le plasma et dans les globules. C'est d'ailleurs aussi l'opinion de LABBÉ et FABRYKANT. Nous inclinons cependant à penser qu'à l'état normal, il y a légèrement plus d'orthophosphates dans les globules que dans le plasma. Ces conclusions, qui sont vraies pour les adultes normaux, ne le sont plus pour les enfants.

Phosphatémie globulo-plasmatique chez enfants normaux :

	Globules	Plasma	G/P.
Jones et Nye ,1921 (79) :			
garçons (16 cas)	45,2	28,71	1,57
filles (4 cas)	32,2	27,81	1,15
Mac Kellip de Young et Bloor, 1933 (96) :			
garçons (4 cas)	35,71	25,40	1,30
filles (7 cas)	43,40	35,40	1,20
Brain (98), sang, vaisseaux ombilicaux, 1928	26,50	55	0,48

La faible teneur moyenne des plasma donnée par les deux premiers auteurs indique assez que ces auteurs ont effectué leur dosage chez des rachitiques, en même temps que chez des sujets normaux. Par contre, les chiffres de BRAIN nous paraissent tout à fait louables et concordent avec ce que nous avons trouvé dans tous les cas. Nous avons centrifugé du sang défibriné d'enfants normaux et, après avoir calculé le rapport globulo-plasmatique, nous avons dosé les orthophosphates inorganiques contenus dans ce sérum de centrifugation, d'autre part, nous avons déterminé le taux des orthophosphates inorganiques dans le sang total. Voici nos résultats.

	Sang total	Globules	Sérum de centrifugation	G/P.
1	53,31	38,38	71,65	0,53
2	54,50	22,33	72,92	0,30
3	50,15	37,60	58,53	0,64
4	46,25	36,82	52,32	0,70
5	43,60	35,04	49,81	0,70
Moyenne	50,56	34,01	61,04	0,41

Ces dosages confirment les affirmations de WIGLES WORTH et WOODROW qui, en 1924, ont établi que, si le taux du phosphore minéral augmente, le plasma en contient plus que globules; de plus, la loi plus complète, énoncée en 1933, par M. le Professeur CRISTOL et moi, se trouve une fois de plus vérifiée.

A une concentration plasmatique faible correspond un rapport phosphate globulaire sur phosphate plasmatique élevé; à une concentration moyenne, un rapport moyen, et à une concentration élevée un rapport bas.

Cette loi nous explique que l'hyperposphatémie physiologique considérable de l'enfance se traduira par une nette augmentation des orthophosphates minéraux dans le sang total et dans le plasma, alors que les globules ont une phosphatémie normale voisine de 34 mg. de P 0/00.

Et c'est une notion importante à retenir que, si le rapport globulo-plasmatique de l'adulte est égal à 1, celui de l'enfant est très voisin de 1/2.

§ V. — PHOSPHATORACHIE

Les dosages des orthophosphates dans le liquide céphalo-rachidien ne sont pas très nombreux. Nous avons réuni ici les chiffres donnés par quelques auteurs.

	exp. en mg. de P 0/00		
	exp. en mg. de P /00		
	Min.	Max.	Moy.
Mestrezat (99)	—	—	13,34
Donath	—	—	22,00
Apett et Schumm, 1908 (100)	—	—	19,00
Cohen, 1924 (101)	12,5	20	—
Merrit et Bauer, 1931 (102)	12	16	13,50

Les variations physiologiques seraient comprises entre 12 et 20. Nous trouvons ces limites un peu étroites. Quant au chiffre normal moyen, les divers auteurs le situent entre 15 et 20. Nous avons effectué un certain nombre de dosages chez des sujets qui avaient une formule chimique rachidienne normale.

	en gr. 0/00			Phosph. expr. en en mg. 0/00	
	Album.	Chlor.	Gluc.	P	PO ⁴ H ³
A.	0,30	7,30	—	19,05	60,20
D.	0,30	—	—	9,45	29,86
G.	0,30	7,00	0,60	17,44	55,11
V.	0,20	7,40	—	22,89	72,33
J.	0,35	7,20	—	21,25	67,15
B.	0,35	7,50	0,57	27,61	80,93
L.	0,35	7,35	0,62	20,72	64,05
Moyenne				19,40	61,30

Le chiffre le plus bas trouvé est 9 mg. 45, le plus élevé 25,60. La moyenne est 19,40. Nous dirons donc que la phosphatorachie normale moyenne est 19 mg. de P 0/00, avec variations physiologiques comprises entre 10 à 25 mg. de P 0/00.

Nous avons fait un certain nombre de dosages chez des éléments précoces dont, comme nous l'avons par ailleurs vérifié, le chimisme rachidien était normal.

	en P	en PO^4H^3
	eu milligr. par litre	
Dis.	13,09	41,36
Ch.	15,00	47,50
V. T.	14,90	47,08
F.	14,90	47,08
Ca.	15,70	49,61
Bo.	14,30	45,19
Tr.	15,00	47,50
Lo	15,75	49,77
Car	15,10	47,50
Car.	14,50	45,82
Tab.	14,50	45,82
Tei.	13,20	41,71
Li.	12,10	38,23
Bona.	11,50	36,34
Duc	14,60	46,13
Moyenne	14,00	44,24

Nous trouvons un chiffre moyen inférieur de 5 mg. 0/00 au chiffre moyen trouvé chez les normaux ; cependant le peu de chiffres normaux que nous possédons, ne nous permettent pas de conclure d'une façon ferme à l'hypophosphatorachie dans la démence précoce, d'autant plus que cette hypophosphatorachie est comprise dans les limites des variations physiologiques. Nous avons, de plus, effectué des dosages dans divers états pathologiques.

	en P	en PO^4H^3
	eu milligr. par litre	
Eclampsie, Alb. 0,35 %, Ch. 7,2	16,30	51,51
Cirrhose avec méningisme	13,30	42,03
Hydrocéphalie	19,00	60,04
Diabète insipide	16,30	51,51
Névrite	13,30	42,03
Epilepsie 0,20 — 7,15	13,60	42,97
Moyenne	15,2	48,03

Au cours de tous ces divers états la phosphatorachie ne nous paraît pas modifiée. Quelques-uns de nos dosages ont porté sur des méningites.

Méningites à méningocoque :

Album.	Chlor.	P	PO^4H^3
—	—	13,20	41,71
—	—	13,00	41,08
—	—	12,75	40,29

Méningites tuberculeuse :

	Album.	Chlor.	P	PO^4H^3
Pachyméningite	0,60	7,00	15,00	47,40
Méningite tuberc.	3,50	6	19,62	62,00
Méningite tuberc.	1	—	16,35	51,67
Méningite tuberc.	2,00	6,2	20,71	65,44

COHEN (101) trouve la phosphatorachie augmentée dans les méningites. MERRIT et BAUER (102) trouvent, pour des maladies diverses du système nerveux (syphilis nerveuse, scléroses multiples, polynévrites) une phosphatorachie moyenne de 15 mg. 1 de P 0/00. Pour les méningites, ils trouvent une phosphatorachie moyenne de 17 mg. 3 de P 0/00.

Il me semble que l'augmentation de la phosphatorachie peut exister dans les méningites, mais je ne l'ai notée que dans les méningites tuberculeuses, qui me donnent une moyenne de 18 mg. de P 0/00. Dans les méningites aiguës à méningocoque, j'ai plutôt trouvé une phosphatorachie abaissée (13 mg. de P 0/00).

Considérant que, cependant, les variations de la phosphatorachie ne se font pas en dehors des limites physiologiques, nous ferons nôtres les conclusions d'APÉLT et SHUMM (100), qui notent que, dans l'ensemble, les changements de la teneur en phosphate du liquide céphalo-rachidien au cours des maladies ne sont pas caractéristiques.

§ VI. — CHIMISME HEMORACHIDIEN DES ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX

Nous avons étudié le chimisme hémoméningé des orthophosphates minéraux chez un certain nombre de déments précoces, du service de M. le Docteur L. PAGÈS, à Font d'Aurelle. La prise de sang et la ponction lombaire avaient lieu à 9 heures du matin. Les sujets étaient à jeun depuis la veille et réveillés depuis 2 heures ; ils étaient restés dans leur lit et ne s'étaient pas agités. La prise de sang a été faite avant la ponction lombaire, qui se faisait dans le quart d'heure qui suivait la prise de sang. Les dosages ont été effectués dans l'heure suivante, d'une part sur le liquide céphalo-rachidien, d'autre part, sur le sérum de centrifugation du sang défibriné.

		en mg. de P 0/00		
		Sérum de centrif.	L. C. R.	Rapport
N° 1	Dis	20,60	12,09	0,58
N° 2	Cha	28,70	15,00	0,52
N° 3	V. T.	28,80	14,90	0,51
N/ 4	Fe	20,90	14,90	0,71
N° 5	Cas.	23,80	15,70	0,66
N° 6	Bon	30,00	14,30	0,46
N/ 7	Tri.	30,00	15,00	0,50
N° 8	Lo.	27,65	15,75	0,57
N° 9	Car.	26,50	15,10	0,56
N° 10	Cast.	31,00	14,50	0,46
Moyenne				0,55

Le rapport le plus haut est 0,71, le plus bas 0,46. La moyenne de ces dix cas est de 0,55. Nous pouvons considérer ce chiffre comme le rapport normal. MERRIT et BAUER (102) trouvent un rapport qui, dans les maladies chroniques du système nerveux, varie de 0,31 à 0,45, avec, comme moyenne, 0,38, et, dans les méningites, un rapport compris entre 0,38 et 1,23, avec une moyenne de 0,40.

MERRIT et BAUER trouvent un rapport plus bas que le nôtre, parce qu'ils ont opéré sur du sérum de rétraction spontanée, qui présente une phosphatémie toujours plus élevée que le plasma ou le sérum de centrifugation.

CHAPITRE II

TAUX DES ORTHOPHOSPHATES INORGANQUES DES HUMEURS EN PATHOLOGIQUE

§ I. REPARTITION GLOBULO-PLASMATIQUE DES ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX À L'ÉTAT PATHOLOGIQUE

Variations de ce rapport:

La loi de répartition des orthophosphates minéraux entre les globules et le plasma, énoncée en 1933 par M. le Professeur P. CRISTOL et moi, avait été, comme nous l'avons déjà dit, partiellement formulée en 1924, par WIGGLESWORTH et WOODROW (54). On peut dire que cette loi trouve une confirmation très nette dans les travaux de tous les auteurs qui ont étudié ce rapport. Cette concordance absolue de tous les résultats indique bien que cette loi est l'expression de la vérité. En outre, elle présente l'avantage de concilier

les résultats en apparence les plus disparates et d'expliquer leur divergence. Si nous réunissons en un tableau tous les rapports globulo-plasmaticques trouvés en les classant par rapport à la teneur plasmatique en orthophosphates, il est aisé de se rendre compte que tous les auteurs ont trouvé, pour une concentration plasmatique élevée, un rapport globulo-plasmaticque abaissé. Ce qui peut s'exprimer en disant que, lorsque la concentration des phosphates augmente dans le sang, elle augmente d'une façon plus considérable dans le plasma que dans les globules.

Auteurs	Valeurs moyennes de G/P pour une phosphatémie plasmatique en:		
	P. mg %		
	P<25	25<P≤35	P≥35
Bloor, 1918 (92)	2,30	1,70	1,50
Mac Kellip, De Young et Bloor, 1921 (96)	1,50	1,30	1,04
Jones et Kyes, 1921 (79)	2,11	1,31	0,78
Wigglesworth et Woodrow, 1924 (54)	—	1,00	0,78
Kerr, S., 1926 (94)	—	1,38	1,08
Brain, Kay, Marshall 1928 (57)	—	0,68	0,52

Le sens du phénomène n'est pas douteux et nous pouvons, d'ores et déjà, affirmer que G/P. décroît quand augmente la teneur en orthophosphates minéraux du plasma et qu'inversement G/P. croît lorsque la phosphatémie plasmatique diminue.

Comme supplément de preuve, on peut ajouter que CHABANNIER et LOBO ONNEL (48) notent, en 1931, une

augmentation plus importante des orthophosphates minéraux dans le plasma que dans les globules, au cours des néphrites.

Dès 1932, j'avais, en outre, remarqué, en étudiant les équivalences entre la phosphatémie du sang total et la phosphatémie du sérum de rétraction, que, dans les cas d'hyperphosphatémie, la concentration des orthophosphates était plus forte dans le sérum que dans le sang total (Ch. I, page 76). Si tous les travaux sont en complet accord sur le sens du phénomène, ils sont en parfait désaccord sur la valeur du rapport G/P. Pour une phosphatémie plasmatique de 25 mg. et au-dessous, les rapports donnés sont compris entre 1,5 et 2,3, avec une valeur moyenne de 2. Pour les phosphatémies plasmatiques comprises entre 25 et 35 mg. de P. 0/00, les valeurs extrêmes données sont 0,68 et 1,70, avec une valeur moyenne de 1,22.

Enfin, pour les phosphatémies plasmatiques supérieures à 35 G/P. oscille entre 0,52 et 1,5, avec comme valeur moyenne 0,95.

Les deux premières valeurs moyennes sont, à notre avis, très proches de la vérité. La dernière, par contre, nous semble trop élevée.

Lorsqu'avec M. le Professeur CRISTOL, nous avons voulu étudier ce rapport, nous avons d'abord pris des sujets qui présentaient une hypophosphatémie nette. Des diabétiques en traitement insulinique, nous ont fourni la phosphatémie abaissée que nous désirions. Nos dosages ont porté sur du sang fluoré à 2 0/00, centrifugé dans les quinze minutes qui ont suivi la prise de sang. Les chiffres que nous donnons sont les chiffres corrigés, suivant la formule que nous avons indiquée dans la première partie.

Globules	Plasma	G/P.
12,20	7,92	1,54
48,45	12	4,03
37,46	13,48	2,77
32,96	14	2,35
37,40	14,26	2,62
24,20	15	1,61
18,41	15	1,22
32,23	24,72	1,30
60,00	25	2,35
34,43	27	1,27
33,80	27,17	1,24

A part les deux derniers cas, toutes les phosphatémies plasmatiques sont inférieures à 25.

Les rapports que nous trouvons se situent entre 1,22 et 4,04. La valeur moyenne de $G/P = 2,2$ (valeur identique à la valeur moyenne trouvée par les différents auteurs). Si maintenant nous prenons les phosphatémies plasmatiques inférieures à 15, nous avons un rapport globulo-plasmatique moyen de 2,66, et, pour les phosphatémies plasmatiques comprises entre 15 et 27 mg. de P 0/00, un rapport moyen de 1,50. Ce sont ces chiffres qui nous ont permis d'énoncer cette partie de loi jamais encore formulée : Plus l'hypophosphatémie plasmatique est importante, plus le rapport G/P. est élevé.

Nous avons, d'autre part, effectué des dosages chez des néphritiques présentant de l'hyperphosphatémie :

Globules	Plasma	G/P.
20	35	0,54
22	45	0,48
56	71,8	0,77

Ces chiffres nous indiquent bien qu'avec une hyperphosphatémie plasmatique, il existe un rapport globulo-plasmatique abaissé.

On peut se demander si le fluorure de sodium ne modifie pas la répartition des orthophosphates. C'est pour nous en assurer que nous avons fait quelques déterminations sur les globules et le sérum de centrifugation des sangs défibrinés. Nous avons déjà vu, dans le premier chapitre, qu'à l'hyperphosphatémie physiologique des enfants correspondait un rapport globulo-plasmatique voisin de 0,50.

Dans une hyperphosphatémie pathologique d'un néphritique chronique, nous avons trouvé abaissement du rapport G/P. :

Sang total	Globules	Sérum de Centrifug.	G/P.
42,51	38,50	49,05	0,66

Par contre, dans l'hypophosphatémie des enfants rachitiques, nous avons toujours trouvé un rapport supérieur à 1.

Sang total	Globules	Sérum de Centrifug.	G/P.
26,37	30,42	24,19	1,15
32,70	39,24	27,25	1,40
34,80	37,50	33,59	1,11

De l'ensemble de ces dosages, nous pouvons tirer la loi suivante, extension de la loi formulée par CRISTOL, PUECH et MONNIER, pour les non électrolytes :

Dans les variations physiologiques ou pathologiques de la phosphatémie, à une concentration plasmatique faible (hypophosphatémie plasmatique) correspond un rapport.....

orthophosphates minéraux globulaires

orthophosphates minéraux plasmatiques

élevé (de 1,5 à 25,); à une concentration moyenne, un rapport moyen (1 à 1,3); à une concentration élevée, un rapport bas (0.50 à 0.60)

En d'autres termes, alors que les orthophosphates minéraux des globules subissent de faibles variations, les orthophosphates du plasma varient d'une façon considérable. Il sera donc préférable, pour apprécier une hypo ou hyperphosphatémie légère, de faire porter le dosage sur le sérum ou sur le plasma plutôt que sur le sang total.

§ II. — HYPOPHOSPHATEMIE

L'hypophosphatémie se rencontre dans un grand nombre d'affections. On peut logiquement classer toutes les hypophosphatémies en cinq groupes :

1° *Les hyperthermiés*, de causes physiques ou infectieuses s'accompagnant d'hypophosphatémie. La broncho-pneumonie doit provoquer l'hypophosphatémie par ce mécanisme.

2° *Les affections ostéo-articulaires*, s'accompagnant de décalcification :

Rachitisme ;

Ostéopathie fibrogéodique décalcifiante de Recklinckhausen ;

Ostéomalacie ;

Tuberculose ostéo-articulaire, etc...

3° *Les affections chroniques du foie :*

Cirrhoses hépatiques ;

Cancer secondaire du foie.

3° *Certaines affections rhino-pharyngées :*

Diphthérie maligne ;

Végétations adénoïdes.

5° *Affections endocrinienne :*

Myxoedémie ;

Diabète traité par l'insuline...

1) Nous avons effectué quelques dosages dans des *maladies ostéo-articulaires*.

Dans le rachitisme, nous avons trouvé, d'une façon constante, une hypophosphatémie très nette :

	P	PO ⁴ H ³
	0/00	
Lenn, 1932, sérum	26,70	84
Leen, 1932, sang total déf.	20,10	63,50

Dans un travail fait en collaboration avec M. BOUCOMONT, nous avons exécuté un grand nombre de dosages chez des rachitiques *sur sang total défibriné* :

	P mg 0/00	PO ⁴ H ³
Sus.	21,80	69,00
Rou.	9,80	31,05
Vey.	27,25	86,25
Rou. 2	13,62	43,03
Cau.	23,43	74,03
Seg.	19,62	62,00
Rou. 3	8,17	25,87
Bog.	18,74	59,34
Bogette	27,25	86,25
Per.	22,45	71,07
Niel.	34,80	109,96
Cab.	26,37	83,32
Moyenne	• 21,10	66,67

La moyenne de ces 12 dosages nous donne 21,10 de P 0/00, ce qui fait, chez les enfants rachitiques, une phosphatémie en moyenne inférieure à la moitié de la phosphatémie normale.

Nous avons, en outre, trouvé le phosphore acide soluble très abaissé chez les rachitiques.

Dans un syndrome de Van der Hoeve, nous avons trouvé (Dosage publié par M. Hugues Cazejust, Viallefont et Ratié) (103), une phosphatémie voisine de 4 mg. 0/00, avec une phosphorémie du sérum de 60 mg. de P 0/00.

2) Affections endocriniennes.

Dans une sclérodermie, nous avons eu une phosphatémie abaissée de 29 mg. 97 0/00. Nous avons déjà donné les chiffres de l'hypophosphatémie trouvée chez des diabétiques non traités par l'insuline, nous n'y reviendrons pas ici (voir page 68).

§ III. — HYPERPHOSPHATEMIES

Parmi les états pathologiques entraînant l'hyperphosphatémie, il faut distinguer :

1° *Affections ostéo-articulaires avec néoformations osseuses :*

Rhumatisme chronique ;

Hypervitaminose D (?). Exostoses multiples.

2° *Affections endocriniennes :*

Tétanie.

3° *Rétentions rénales :*

Néphrites et Néphroses.

4° *Affections sanguines :*

Hyperphosphatémie *absolue*. Leucémie chronique.

Hyperphosphatémie *relative*. Anémie.

1) *Affections ostéo-articulaires :*

Nous avons effectué deux déterminations de la phosphatémie chez deux enfants qui présentaient des exostoses multiples. Nous avons trouvé une hyperphosphatémie du sérum manifeste :

	P	PO ⁴ H ³
	mg 0/00	
Ag. Pier., 1932	65,40	206,66
Ag. V.	66,00	208,56

2) *Hyperphosphatémie dans la rétention rénale :*

En 1881, FLEISCHER (104), faisant ingérer du phosphate de sodium à des sujets normaux et à des néphritiques, observe que les sujets indemnes de lésions rénales éliminent la totalité du phosphore ingéré dans les 24 heures ou 48 heures, tandis que les néphriti-

ques présentent, soit une élimination très ralentie, soit une rétention absolue. JEANBRAU, CRISTOL et BONNET (105) font, en 1925, ingérer de la limonade phosphorique aux sujets sains et néphritiques. L'absence de modifications de l'urine des néphritiques après l'ingestion d'acide phosphorique, leur fait conclure à l'imperméabilité rénale aux ions acides.

Il faut, en outre, ajouter que l'excrétion intestinale est normale dans les néphrites. On est inéluctablement amené à conclure qu'il y a rétention des orthophosphates dans les néphrites.

Cette conclusion a été vérifiée par GREENWALD (106) dès 1915. Cet auteur a signalé le premier l'augmentation du phosphore minéral dans le sang des néphritiques. Cette hyperphosphatémie a été retrouvée par tous les auteurs qui ont étudié la question. Si l'accord est unanime pour reconnaître qu'il y a hyperphosphatémie dans les néphrites, il existe encore une discussion pour savoir si l'hyperphosphatémie accompagne toutes les néphrites. C'est cette question que nous nous sommes d'abord attaché à résoudre.

Nous avons étudié l'hyperphosphatémie du sérum dans un nombre assez varié de cas. Notre étude a porté sur des hyperazotémies aiguës et sur des hyperazotémies chroniques.

Hyperazotémies aiguës.

Il est classique de dire que les néphrites aiguës ne s'accompagnent pas d'hyperphosphatémie. Il nous semble indispensable de modifier cette opinion erronée.

1° Certaines néphrites aiguës s'accompagnent d'hy-

perphosphatémie. Nous avons pu effectuer un dosage dans le cas d'une intoxication mortelle par le cyanure de mercure :

R. A. : 24 cc. 10 % ;

Azotémie : 1 gr. 10 0/00 ;

Phosphatémie (sérum) 60 mg. 05 de P 0/00

Le sujet était dans le coma au moment de la prise de sang ; il est mort dans les 24 heures qui ont suivi ce dosage.

Il est donc faux de croire que, dans une rétention brusque, les phosphates ne sont pas retenus.

En outre, dans une strepto-diphtérie, chez un bacillaire, qui s'accompagnait d'albuminurie, avec rétention azotée, la phosphatémie était très élevée :

Azotémie: 4 gr. 60;

P. en mg. 0/00 : 81,75.

et cependant nous avons à faire à une rétention aiguë et fébrile. Or, nous savons que l'hyperthermie entraîne l'hypophosphatémie.

2° *Certaines rétentions aiguës fébriles ne s'accompagnent pas d'hyperphosphatémie.*

	Azotémie	P
	en gr. 0/00	de sérum en mg. 0/00
1° Grippe	1,27	21,80
1° Grippe	1,27	21,80
3° Phlegmon opéré	1,10	38,00
4° Intoxication alimentaire fébrile	1,40	34,70

Les deux premiers cas nous présentent même une hypophosphatémie nette. Les deux autres ont une

phosphatémie sensiblement normale. Ces faits peuvent s'expliquer par le fait de l'hypophosphatémie fébrile, qui peut masquer une rétention phosphatique qui se marquera surtout par une augmentation de phosphore acido-soluble organique, comme l'ont montré BISCHOFF, MAXWELL et E. HILL (107).

3° *Cependant, une légère hypophosphatémie peut apparaître dans certaines retentions fébriles.* Nous l'avons mise en évidence dans une néphrite survenue au cours d'une fièvre typhoïde.

Cette hyperphosphatémie n'évolue pas parallèlement à la rétention azotée.

Dates	Azotémie en gr. 0/00	P en mg. 0/00
16-1-32	3,67	38,1
17	3,50	49,0
19	4,10	50,0
20	4,08	40,8
22	4,02	43,6
23	4,10	45,0

4° *Après une néphrite aiguë l'hyperphosphatémie disparaît brusquement, tandis que l'azotémie revient progressivement à la normale.*

C'est ce que nous montre le cas suivant :

	Azotémie en gr. 0/00	Phosphatémie P en mg. 0/00
1 ^{er} jour	1,70	70,30
2 ^e jour	1,00	32,00
3 ^e jour	0,67	33,00
4 ^e jour	0,30	30,00

Cette chute brusque doit correspondre à la « débâcle urinaire », qui succède à une période fébrile avec rétention.

Hyperazotémies chroniques :

Dans tous les cas de rétention azotée chronique, nous avons trouvé une hyperphosphatémie très nette.

N°

	Azotémie	Phosphatémie du sérum
	en gr. 0/00	P en mg. 0/00
1	0,65	39
2	0,65	41
3	0,80	41
4	1,00	41,87
5	1,20	48,50
6	1,50	70,50
7 péricard. brigh.	3,34	99,00

Dans les néphrites chroniques, la rétention phosphatique est à peu près pareille à la rétention azotée.

Chez une même malade, nous avons pu suivre l'aggravation de la néphrite.

B. O.

	Azotémie	Phosphatémie du sérum
	en gr. 0/00	P en mg. 0/00
1 ^{er} jour	0,86	65,40
10 jours	0,96	70,30
18 jours	1,10	70,84
		Mort

Néphrites albuminuriques et hypertensives sans rétention azotée.

Azotémie	Phosphatémie du sérum en P mg. 0/00
0,30	32,70
0,35	34,06

Il n'y a pas hyperphosphatémie dans ces deux néphrites hypertensives et albuminuriques.

§ IV. — HYPERPHOSPHATEMIE ET ACIDOSE D'ORIGINE RENALE

Il est donc établi que la plupart des rétentions azotées, aiguës ou chroniques, s'accompagnent d'une rétention des phosphates, ions acides. D'autre part, il existe dans les néphrites une acidose qui peut devenir, dans certains cas, considérables. DE WESSELOW (108), le premier, en 1924, établit une liaison entre ces deux faits expérimentaux et considère l'hyperphosphatémie comme cause déterminante de l'acidose rénale. En 1925, JEANBRAU, CRISTOL et BONNET (105) concluent que l'absence d'ammonurie après ingestion de limonade phosphorique, indique que l'ion PO_4 est retenu. La fonction ammonio productrice permet normalement à l'organisme de conserver ses bases fixes (Na, K...) tout en éliminant les ions acides sous forme de sels ammoniacaux.

Quand un sujet ne réagit pas à l'ingestion de la limonade phosphorique par une hyper-ammoniurie, deux cas peuvent se présenter :

1° Ils éliminent les ions acides avec perte de bases fixes et, dans ce cas, l'acidité ionique urinaire augmente. On aura, dans ce cas, une acidose par alcalipénie.

2° Ils n'éliminent pas les ions acides. L'absence d'hyperammoniurie provoquée n'est pas accompagnée de modifications du pH. On doit conclure que l'ion PO_4 est retenu, en même temps qu'est lésée la fonction anti-acidosique du rein.

La constatation de ces faits montre bien que les auteurs avaient, dès cette époque, établi une corrélation entre la rétention des ions acides et l'acidose rénale.

Cependant, par la suite, nombreux ont été les auteurs qui ont combattu cette manière de voir. MARRIOT et HOWLAND (109) trouvent des acidoses rénales sans hyperphosphatémies. DENIS et MINOT (110) ne trouvent aucune relation définie entre la phosphatémie plasmatique et la réserve alcaline. Enfin, BOYD COURTNEY et MAC LACHLAM (111) ont constaté une hyperphosphatémie sans acidose. Moi-même, poussé par M. le Professeur CRISTOL à faire cette étude, je n'ai pu trouver aucun parallélisme entre l'évolution de la réserve alcaline et la phosphatémie, c'est ce dont on peut se rendre compte en considérant les deux tableaux suivants :

Rétention aiguë au cours d'une fièvre typhoïde avec acidose :

Réserve alcaline en cc. de CO_2 %	Phosphatémie sérique en mg. de P 0/00
20,2	38,1
18,3	49,0
18,3	50,0
20,4	40,8
23,4	23,4
20,2	45,0
12,2	48,0
Mort	

Nous voyons, en particulier une R. A. de 18 cc³ correspondre à une phosphatémie de 50 mg^e et une R. A. de 12,2 correspondre à une phosphatémie de 48 mg. Le parallélisme n'existe pas davantage dans les néphrites chroniques.

Cas	Réserve alcaline en cc. de CO ² %	Phosphatémie sérique en mg. de P 0/00
1	24,20	60,05
2	33,00	70,30
3	40,00	70,80
4	40,90	39,00

Nous ne nous hâterons pas de conclure, comme MARRIOT et HOWLAND, BOYD COURTNEY et MAC LACHLAM, DENIS et MINOT, que l'hyperphosphatémie ne conditionne en rien l'acidose, mais plutôt, avec SCHMIDT, ROHDENBURG et MYERS (112), que, si toutes les acidoses rénales ne ont pas dues à l'hyperphosphatémie, la rétention de l'ion PO⁴ est une cause fréquente de l'acidose rénale.

Le dosage de la phosphatémie, à lui seul, ne peut renseigner sur le degré de la rétention des ions PO⁴.

On peut avoir une hyperphosphatémie sans qu'il y ait, en même temps rétention d'ions PO⁴. Cette hyperphosphatémie peut, en effet, correspondre à une hyperhydrolyse des esters phosphates, qui seront abaissés. La phosphorémie ne sera pas modifiée.

Il peut y avoir rétention d'ions PO⁴ avec hypophosphatémie, si les esters phosphates ou les autres fractions phosphorées du sang sont augmentées.

Il semblerait donc que, seule la phosphorémie puisse donner une juste appréciation de la rétention phosphatique, étant donné que, quelle que soit la fraction phos-

phorique augmentée, le phosphore total présentera une augmentation. Nous avons effectué quelques dosages de la phosphorémie du sérum dans les néphrites.

(Hôpital général, 1931)

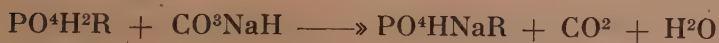
Réserve alcaline en cc. de CO ² %	Phosphorémie du sérum en mg de	
	P 0/00	PO ⁴ H ³
5	213	676
48	192	608
40	181	571
40	181	571
32	150	476
Phosphorémie normale	125	395

Il n'existe pas de relation nette entre le taux de la phosphorémie et l'abaissement de la réserve alcaline et ceci est aisément explicable.

L'acide orthophosphorique possède trois acidités ; sa première acidité est forte, sa deuxième est moyenne, sa troisième est si faible qu'elle ne peut décomposer CO³Na² ou CO³NaH.

C'est cette acidité extrêmement faible qui est libre dans les nucléoprotéides, les phospholipides et sûrement dans les phosphoprotéides. L'acide orthophosphorique retenu sous cette forme ne peut influencer en rien le taux de la réserve alcaline.

Dans les esters phosphoriques, nous avons deux acidités phosphoriques libres. Une des acidités est l'acidité moyenne, qui peut décomposer le CO³NaH suivant la formule:



D'après cette formule, on peut calculer qu'une rétention de 1 mg. de P sous cette forme, peut diminuer

la réserve alcaline de 0 cc. 07 %. Pour abaisser une réserve alcaline de 10 cc. %, il faudra donc une rétention de 144 milligrammes 0/00 de P acido-soluble, ce qui est considérable.

Enfin, si PO^4 est retenu sous une forme minérale, il présente trois acidités libres, dont deux sont susceptibles de décomposer les bicarbonates suivant la formule :



Dans ce cas, il suffira d'une rétention de 72 mg. de P par litre pour que la réserve alcaline soit abaissée, du seul fait de cette rétention de 10 cc. de CO^2 %.

Ce n'est donc pas tant le parallélisme entre la rétention phosphatique et l'abaissement de la réserve alcaline qu'il faut considérer, mais plutôt la *modalité* de cette rétention. Une étude ainsi conduite indiquerait d'une façon exacte la part qui revient à la rétention phosphatique dans la pathogénie de l'acidose d'origine rénale.

Quel que soit le rôle joué par la rétention phosphatique dans l'acidose rénale, il est certain que la valeur pronostique de la rétention phosphatique dans les néphrites n'a pas été exagérée. Pour ma part, dans les cinq cas sur six de néphrites aiguës ou chroniques où j'ai trouvé une phosphatémie sérique supérieure à 65 mg. de P 0/00, le malade a succombé dans la semaine qui a suivi le dosage.

§ V. — TAUX DES ORTHOPHOSPHATES INORGANQUES DANS LES LIQUIDES PATHOLOGIQUES

Nos dosages des orthophosphates minéraux dans les liquides pathologiques ne sont pas très nombreux. Nous apportons ici quelques chiffres qui pourront

servir à donner une idée de la teneur en orthophosphates de quelques exsudats et transsudats.

Liquides d'ascites

	Rivalta	Albumine	Chlorures	Phosphates
	en gr. 0/00	en gr. 0/00	en mgr. PO ⁴ H ³	
1	+	—	—	39,60
2	±	51,00	6,80	76,50
3	négatif	3,10	7,00	120,55

Liquides pleuraux

	Rivalta			
1	+	50,00	6,40	85,50
2	+	45,60	6,50	86,10

Pleurésie gauche

3	+	27,00	6,40	159,80
---	---	-------	------	--------

Pleurésie scrofibrineuse

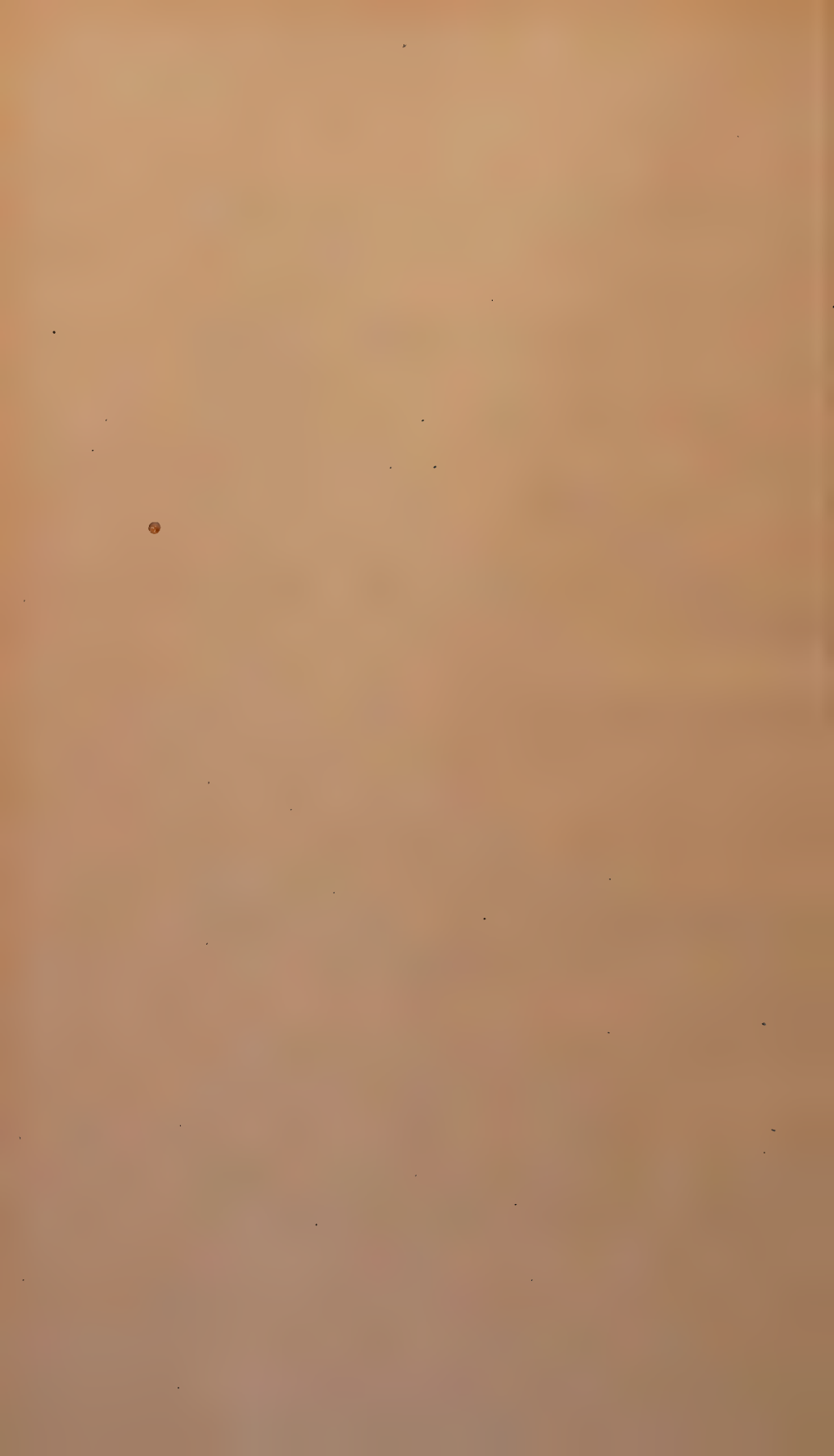
4	+	—	—	165
5	négatif	—	—	131

Dans l'épanchement pleural d'un cancer pleuro-pulmonaire prélevé 24 heures post mortem nous avons trouvé 290 mg de PO⁴ H³ par litre. Ce chiffre indique bien la tendance post mortelle du retour à l'état minéral des substances organiques.

Liquides de Kystes.

	Chlorures	Phosphates
Kyste de l'ovaire	7,40	83,10
Kyste hydatique	6,10	25,87

Nous nous contentons de reproduire ces chiffres, attendant pour formuler une conclusion de posséder un plus grand nombre de dosages.



TROISIEME PARTIE

ETUDE DYNAMIQUE DES ORTHOPHOSPHATES

INORGANQUES

LA PHOSPHOMINERALISATION

CHAPITRE I

LE PHENOMENE DE LA PHOSPHOMINERALISATION

Nous désignons par le mot de phosphominéralisation, le phénomène très général par lequel une combinaison organique du phosphore libère celui-ci sous forme d'orthophosphate minéral.

Pendant la vie, le sympathique prédominant accélère les transformations, détruit les réserves pour libérer de l'énergie et provoque une synthèse importante de composés organiques phosphorés qui se traduit par de l'hypophosphatémie. Le vague, au contraire, qui est constructeur et conservateur des réserves, provoque, dans les états où il est prépondérant, une phosphominéralisation plus ou moins intense. C'est ainsi que, pendant le sommeil quotidien de tous les animaux et pendant le sommeil saisonnier des animaux hibernants, le taux des phosphates miné-

raux sanguins augmente considérablement. Après la mort, tout organisme, livré à ses propres diastases ainsi qu'aux diastases microbiennes et parasitaires, voit tout son phosphore organique se minéraliser. Un sang séparé de l'animal se soumet à cette loi générale et c'est sa phosphominéralisation autonome (dépendant de ses propres diastases) qu'il nous a paru intéressant d'étudier.

§ I. — EVOLUTION ASEPTIQUE
DES ORTHOPHOSPHATES DANS LE SANG
DEFIBRINE. — ORIGINE
DES ORTHOPHOSPHATES LIBERES

Il est depuis longtemps établi que, dans un sang abandonné à lui-même, on constate tout d'abord une diminution, puis, dans une deuxième phase, une forte augmentation du phosphore minéral libre (*Bierry et Moquet*. 1924 (113)).

A. Roche et J. Roche (114) en 1929, distinguent une période où les variations du taux des orthophosphates sont de faible amplitude, suivie d'une période d'importante augmentation.

Irving (115), en 1926, signale seulement qu'il n'existe pas de variation des orthophosphates pendant une première période. *Morgulis et Barkus*, *Piazza*, *Martland*, *Hausman et Robison*, *G. M. Guest* sont arrivés à des conclusions voisines.

Nous pouvons résumer tous ces travaux en disant que la phosphominéralisation doit être divisée en deux phases :

1° Pendant la première phase les orthophospha-

tes minéraux peuvent, soit augmenter faiblement, soit ne pas varier, soit diminuer.

2° Pendant la deuxième phase, les orthophosphates minéraux augmentent d'une façon considérable.

Mes recherches m'ont amené à des conclusions identiques. Le sang a été recueilli aseptiquement dans des flacons stérilisés contenant des billes de verre. Les prises d'essais pour les dosages successifs ont été faites avec des pipettes stérilisées à l'autoclave. Nous avons avec *J. Dulcy*, établi en 1933, une courbe de phosphominéralisation moyenne à partir des dosages effectués sur huit sujets qui n'étaient ni cancéreux, ni diabétiques.

Heures	P. en mg 0/00	PO ⁴ H ³ en mg 0/00
0	31,7	100,2
6	23,1	73,0
24	30,0	95,0
30	38,0	119,0

Le sang défibriné était maintenu à une température à peu près constante voisine de 21°. La courbe des orthophosphates dressée à partir de ces chiffres nous montrerait dans une première phase une courbe descendante passant par un minimum vers la 6^e heure. La courbe devient coascendante et, à la 24^e heure, le taux de la phosphatémie peut, suivant les individus, ne pas atteindre ou dépasser le taux initial.

Nous avons, suivant la même méthode, établi des courbes de phosphominéralisation pour le sang de bœuf, de porc et de poulet. Comme nous allons le voir, la couche observée chez ces animaux, diffère

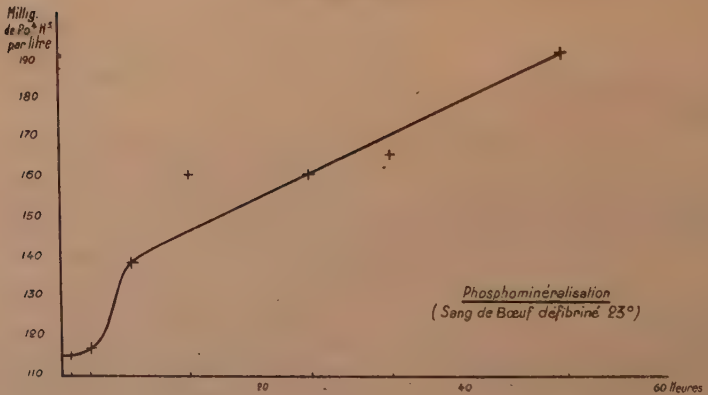
de celle que nous venons de décrire pour l'homme. Cependant il existe certains points communs et les dissemblances peuvent logiquement s'expliquer.

Etudions, tout d'abord, la phosphominéralisation chez le bœuf. La phosphatémie du bœuf est très voisine de la phosphatémie humaine. La courbe de phosphominéralisation est cependant fort différente.

Sang défibriné de bœuf à 23°

Heures	P. en mg 0/00	PO ⁴ H ³ en mg 0/00
1	36,30	115
3	36,60	116
7	43,60	138
25	50,70	160
33	52,30	166
50,20	60,30	191

Courbe n. 2



Cette courbe nous montre que pendant les trois premières heures, il y a une très faible variation du taux des orthophosphates.

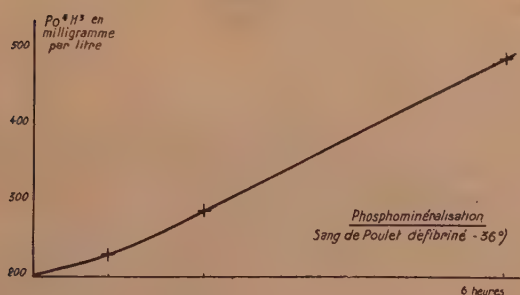
Entre la 2^e et 7^e heure, il y a une brusque libération ; par la suite, la libération se fait sensiblement

suivant une droite. Cette courbe n'est déjà pas très voisine de la courbe de phosphominéralisation que l'on observe chez l'homme. Reste à savoir si, chez les animaux physiologiquement hyperphosphatémiques, nous observons le même phénomène. C'est ce que nous allons examiner tout d'abord chez le poulet.

Sang défibriné de poulet.

Heures	P. en mg 0/00	PO ⁴ H ³ en mg 0/00
0	64,00	203
1	72,50	230
2,15	91,00	287
6,15	154,50	490

Courbe n. 3

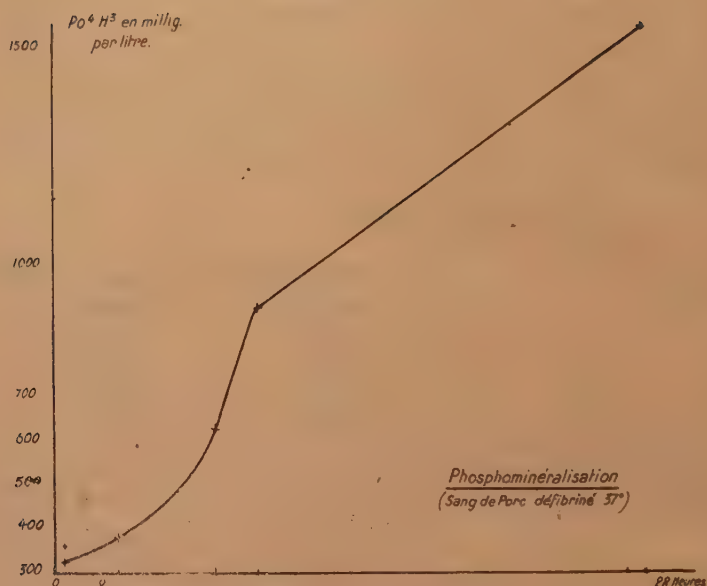


Dans cette courbe nous trouvons une inflexion à peine marquée. Le porc présente une phosphatémie encore plus considérable que celle du poulet.

Sang défibriné de porc à 37 °.

Heures après prélèvement	P. mg par litre	PO ⁴ H ³ mg
30 minutes	104	329
3 heures	120	382
7 h. 30 m.	200	632
9 h. 20 m.	285	900
26 h. 50 m.	484	1532

Courbe n. 4



Les deux phases successives de la phosphominéralisation sont ici particulièrement bien marquées, l'inflexion initiale étant ici très nette.

Il résulte de ce que nous venons d'exposer.

1° Qu'il n'existe pas de relation entre le taux initial de la phosphatémie et l'allure générale de la courbe.

2° Que toutes les courbes de phosphominéralisation présentent une inflexion plus ou moins accusée.

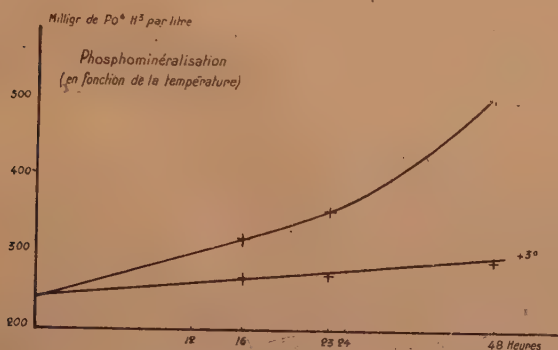
Nous avons ensuite recherché si la phosphominéralisation pourrait s'effectuer à de basses températures. Les expériences que nous avons faites sur le sang de porc, nous ont montré qu'on avait à + 3° une phosphominéralisation très ralentie. Nous avons en même temps établi une courbe de phosphominéralisation pour le même sang placé à 18°.

Sang défibriné de porc

Heures en P. en $\text{PO}^4 \text{H}^3$ en P. en $\text{PO}^4 \text{H}^3$
par litre

	18°		+ 3°	
0	77	243	77	243
16	100	316	84,5	267
23	111	351	86	271
48	160	505	92	290

Courbe n. 5



Il suffit de cette expérience pour montrer que la phosphominéralisation est d'autant plus rapide que la température est plus élevée.

Balachouwski et Guinsbourg (116) qui ont publié en mai 1934 des dosages sur la phosphominéralisation à $+5^\circ$ concluent en comparant ces courbes à celles dressées à 37° qu'entre les deux, on ne trouve de différences que sur la vitesse de réaction.

Or si l'on examine la courbe donnée par les auteurs à $+5^\circ$ et celle que nous donnons à $+3^\circ$, on remarque l'absence totale de l'inflexion du début, ce qui indiquerait que l'abaissement de la température est capable de produire une dissociation entre l'action diastasique qui fixe et celle qui libère les orthophosphates.

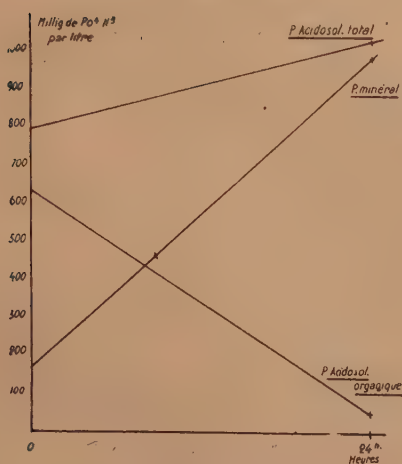
Il est donc bien établi que dans un sang recueilli stérilement et conservé à l'abri de toute contamination microbienne il y a augmentation du taux des orthophosphates minéraux. On s'est demandé quelle était l'origine des orthophosphates libérés.

Bierry et Moquet (113) ont cherché si le phosphore minéral qui apparaissait provenait du phosphore lipidique. Mais la très faible diminution de ce dernier, comparée à la grande augmentation du phosphore minéral libre, montre bien que le phosphore lipidique ne peut être considéré comme la source principale à partir de laquelle s'opère la phosphominéralisation.

Rona et Iwasaki (117) « admettent » sans preuves expérimentales directes, que le phosphore minéral qui est libéré, provient de l'hydrolyse du phosphore étherifié de la fraction acidosoluble du sang. J'ai pu me rendre compte expérimentalement du bien fondé de cette hypothèse. J'ai pour cela dosé simultanément le phosphore minéral et le phosphore acidosoluble d'un même sang avant la phosphominéralisation et après une phosphominéralisation de 24 heures à 37°. J'ai ainsi obtenu les chiffres suivants.

	P. acidosoluble		P. acidosoluble		P. minéral	
	total		organique			
	en milligrammes de PO ⁴ H ³ par litre					
Temps	0 h.	24 h.	0 h.	24 h.	0 h.	24 h.
n. 23	807	870	611	0	195	870
n. 24	932	1260	767	129	165	1131
n. 25	783	1064	646	79	137	985
n. 26	692	957	534	0	158	966
Moyenne	803	1037	639	52	163	988

Courbe n. 6



De cette expérience il faut conclure.

1° La plus grande partie (75 % environ) des orthophosphates libérés provient du phosphore acido soluble organique qui dans certains cas peut avoir entièrement disparu.

2° Les phosphores plus évolués, plus stables sont atteints à leur tour, peuvent être partiellement désagrégés et passer à l'état de phosphore minéral.

3° L'hydrolyse des esters du phosphore acido soluble est facile et rapide. L'hydrolyse des portions lipidiques, nucléoprotéidiques et protéidique paraît lente et difficile.

§ II. — RAPPORTS ENTRE LES COURBES DE PHOSPHOMINÉRALISATION ET LES COURBES DE GLYCOLYSE

Une courbe de phosphominéralisation spontanée dans un sang « in vitro » présente nettement deux phases successives.

Dans une première phase on peut avoir une diminution du phosphore inorganique. On ne rencontre souvent qu'un simple ralentissement de la phosphominéralisation se traduisant par un plateau, ou une courbe de faible pente.

Dans une deuxième phase, la phosphominéralisation devient rapide et considérable.

Dans les cas où l'on trouve une diminution des orthophosphates minéraux il est évident que se produit un phénomène inverse à celui de la phosphominéralisation. Dans les cas où nous avons seulement une inflexion initiale, nous pouvons supposer que la phosphominéralisation se produit activement dès l'origine des temps et qu'une réaction inverse se superpose venant partiellement masquer la libération des orthophosphates. D'autre part on sait que dans un sang « in vitro » le glucose disparaît au bout d'un temps, plus ou moins long suivant la température. Cette disparition est appelée autoglycolyse sanguine « in vitro ». Il est remarquable de constater que cette glycolyse est très intense au moment précis où la courbe de phosphominéralisation passe par un minimum ou présente, soit un plateau, soit une inflexion.

Il était dès lors logique de penser que la glycolyse s'accompagnait d'une synthèse de composés organiques phosphatés ; suivant que le processus de la libération ou le processus synthétique de fixation des orthophosphates sera prédominant on aura toutes les variétés de courbes que nous avons signalées.

Or, les travaux de Lob (118) d'une part et ceux de Rona et Arnheim (119) d'autre part, avaient montré que l'addition de phosphates augmente la glycolyse dans un sang « in vitro » et la déclanche dans un

sang hémolysé, où elle était empêchée. On ne tarda pas à émettre l'hypothèse que les orthophosphates jouaient un rôle important dans l'autoglycolyse sanguine. *Bierry et Moquet* (113) en 1924, *Rona et Iwasaki* (117) en 1926 et surtout *A. Roche et J. Roche* (120-121-122) ont publié toute une série de remarquables travaux sur cette question et ont accumulé les preuves expérimentales justifiant leur conception.

Selon tous ces auteurs, le phosphore minéral libre qui disparaît, sert à former un hexosephosphate qui interviendrait activement dans la dégradation du glucose sanguin. Le mécanisme de cette action est très discuté. *A. et J. Roche* invoquent la transformation isomérique par phosphorylation, d'un sucre stable en sucre labile.

Jost (123) invoque la transformation de l'hexose phosphate en acide lactique d'une part et d'autre part en acide diphospho-glycérique.

Pour *Barrensheen* (124-125-126), la diminution des orthophosphates minéraux est due à la formation d'un pyrophosphate à partir duquel est faite la synthèse de l'hexose diphosphate. Cet hexose diphosphate se scinde en donnant 2 molécules d'acides glycéralphosphorique ($\text{PO}^4\text{H}^2 - \text{CH}^2 - \text{CHOH} - \text{CHO}$). Par oxydo-réduction, il se formera à partir de ce corps de l'acide glycérophosphorique et de l'acide phosphoglycérique ($\text{PO}^4\text{H}^2 - \text{CH}^2 - \text{CHOH} - \text{COOH}$). C'est de ces acides que proviennent le méthyl glyoxal, l'acide pyruvique et l'acide lactique.

Si le mécanisme de l'action des phosphates dans la glycolyse n'est pas encore parfaitement élucidé, il est bien établi que cette action est réelle et qu'en tout cas l'autoglycolyse sanguine s'accompagne d'une fixation passagère de phosphore minéral. *Morgulis*

et *Barkus* (127), *Irving* (115) et *Piazza* (128) qui ne partagent pas cette opinion apportent eux-mêmes des faits expérimentaux qui la confirment.

Au cours des travaux effectués avec *J. Dulcy*, il m'a été permis de comparer mes courbes de phosphominéralisation aux courbes de glycolyse qu'il avait établi sur les mêmes sangs.

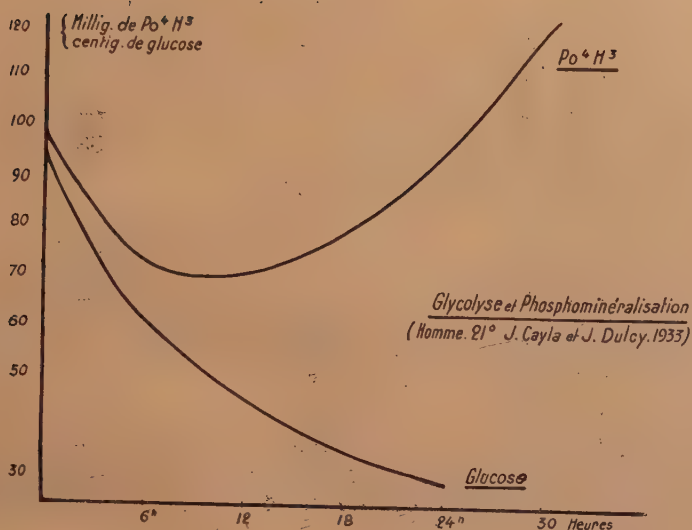
Le plan de notre travail a été de prendre des animaux ayant des vitesses de glycolyse différentes et de rechercher les relations entre la vitesse de glycolyse et l'allure de la courbe de phosphominéralisation.

La glycolyse du sang humain est la glycolyse la plus rapide que nous ayons étudiée. La courbe de phosphominéralisation nous montre que la synthèse de composés organiques phosphorés l'emporte nettement sur la phosphominéralisation.

La courbe que nous avons donnée en 1933 avec *J. Ducly* (70) était dressée d'après les chiffres suivants (T 21°).

Heures	PO^4H^3 en mg par litre	Glycose en cg par litre
0 h.	100	95
6 h.	73	62
23 h.	95	29
30 h.	120	—

Courbe n. 7



La nette dépression initiale correspond à une disparition pendant les 6 premières heures de 33 cg de glycose. A la 24e heure 66 cg de glycose ont déjà été lysés.

La glycolyse dans le sang de chien et de lapin, étudiée par A. et J. Roche (114) est sensiblement aussi rapide que la glycolyse du sang humain. La courbe de phosphominéralisation présente la même allure générale que celle établie pour l'homme.

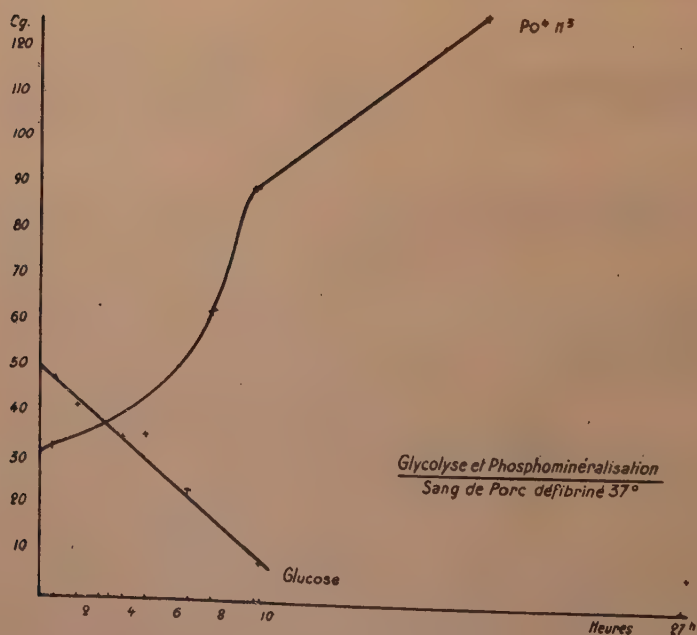
Dans le sang de porc par contre la glycolyse est plus lente que dans le sang humain.

Sang défibriné de porc 37°.

Heures	PO ⁴ H ³ en centigrammes par litre	Glucose
0 h. 30	33	—
0 h. 40	—	48
1 h. 40	—	42
2 h. 40	—	38
3 h.	38	—
3 h. 40	—	35
4 h. 40	—	36
6 h. 30	—	24
7 h. 30	63	—
9 h. 20	90	—
9 h. 40	—	9
27 h.	153	7

Tableau n° 8

Cg l

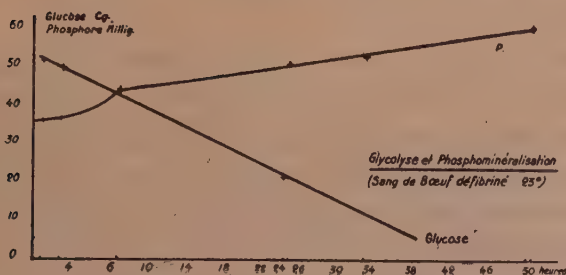


Ici nous avons une glycolyse relativement lente ; en 3 heures à 37° (ce qui correspond à peu près à 6 heures à 25°) nous n'avons que 13 cg de glucose disparu au lieu de 33 chez l'homme. A cette glycolyse plus lente, correspond une courbe de phosphominéralisation qui ne passe pas par un minimum et marque seulement une inflexion initiale qui par sa durée se superpose exactement à la glycolyse. La fixation de P. libre ne parvient pas à masquer entièrement la phosphominéralisation.

Nous sommes amenés à une semblable remarque si nous étudions le phénomène sur le sang défibriné de bœuf à 23°. La glycolyse est, ici aussi, relativement lente ; nous avons trouvés les chiffres suivants :

Heures	P. en mg %	Glucose en cg %
1 h.	36	52
3 h.	36,5	50
7 h.	44	45
24 h. 30	—	22
25 h.	51	—
33 h.	53	—
50 h.	—	0
50 h. 20	60	—

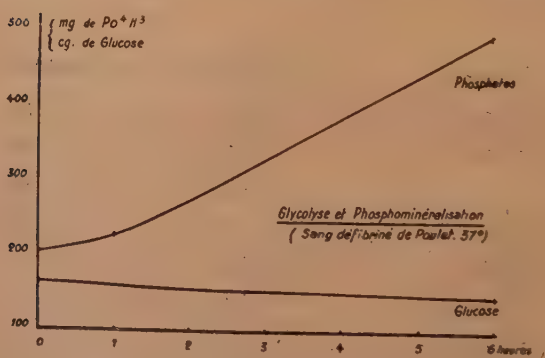
Courbe n. 9



Nous voyons qu'à la sixième heure, 6 centigrammes seulement de glucose ont disparu ; à cette disparition lente de glucose, nous voyons correspondre une courbe de phosphominéralisation qui présente un simple plateau initial.

La glycolyse chez le poulet est encore plus lente que chez le bœuf. Nous avons le tableau suivant :

Sang défibriné de poulet à 37°		
	PO ⁴ H ³ en mg par lit.	Glucose en cg par lit.
0 h.	203	164
1 h.	230	—
2 h. 15.	287	—
6 h.	490	146



Dans ce dernier cas la glycolyse est extrêmement lente. Nous croyons que la courbe de phosphominéralisation présente une inflexion initiale à peine marquée.

Il ne nous reste plus qu'à étudier ce qui se passe quand artificiellement on supprime la glycolyse.

Nous avons pour cela établi des courbes de phosphominéralisation sur des sangs fluorés à 2 0/00 ou sur des sangs défibrinés contenant 0 g. 2 0/00 d'acide monoiodacétique.

Balachowski et Guinsbang (116) qui ont établi des courbes de phosphominéralisation sur sang fluoré n'indiquent malheureusement pas le taux de Fluorure de Sodium employé par eux ; Ils se contentent de noter que la phosphominéralisation est plus lente en présence de Fluorure.

Prenons du sang humain fluoré à 2 g. 0/00, nous n'avons plus la courbe de phosphominéralisation caractéristique du sang humain normal. Ici, il n'y a plus, ni minimum, ni inflexion initiale.

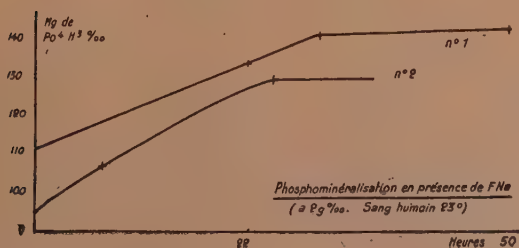
Sang humain fluoré à 2 g. 0/00 à 20°

Cas n° 1	P	PO ⁴ H ³
	en mg 0/00	
0	35,42	112,12
22 h. 30	42,52	134,36
30 h.	44,69	141,45
50 h.	45,33	143,17

Dans un deuxième cas, nous trouvons une courbe qui présente une allure analogue

Cas n° 2	P	PO ⁴ H ³
	en mg 0/00	
0	30	95
7	34,5	107
27	41	130
31	40,5	128

Courbe n° 11



Nous remarquons en examinant ces deux courbes que :

1° Il n'existe pas d'inflexion initiale, ce que nous pouvons aisément comprendre, puisque cette inflexion est attribuée à la glycolyse et que cette dernière est empêchée.

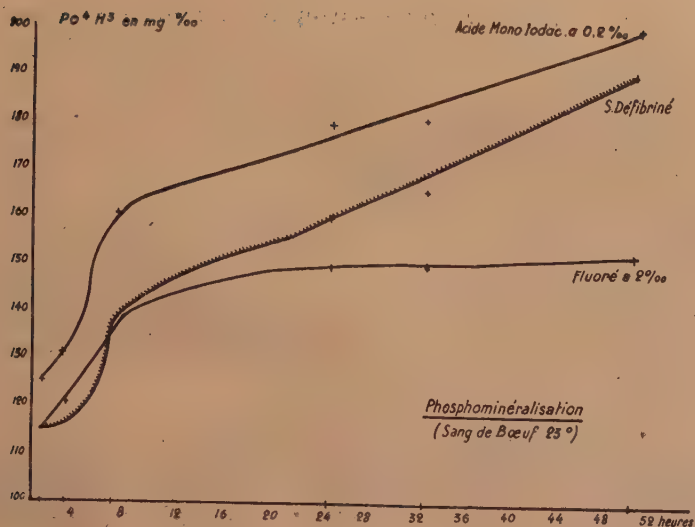
2° La libération des orthophosphates ne se fait plus au bout d'un certain temps. Ce fait indiquerait qu'il existerait dans le phosphore acido-soluble un composé organique phosphoré dont le fluore de sodium empêcherait l'hydrolyse phosphatasique.

Nous avons pour un même sang de bœuf établi trois courbes de phosphominéralisation: Une sur sang défibriné, une sur sang fluoré à 2 0/00 et, enfin, une troisième sur sang défibriné contenant 0,2 0/00 d'acide mono-iodacétique.

Température 23°

Heures ap. prélèv.	défibriné 00/00	FNa à 2 0/00 PO ⁴ H ³ enmg 0/00	CH ² I COOH à 0,2 0/00
1 h.	115	115	125
3	116	121	131
7	138	138	161
25	160	150	180
33	166	150	181
50,20	191	152	201

Courbe n° 12



L'examen de ces courbes nous montre :

1° Que la phosphominéralisation sur fluorure de sodium à 2 0/00, active au début, ne tarde pas à se terminer en plateau.

2° Sur acide mono-iodacétique à 0,2 0/00 il n'y a pas d'inflexion initiale de la courbe —————

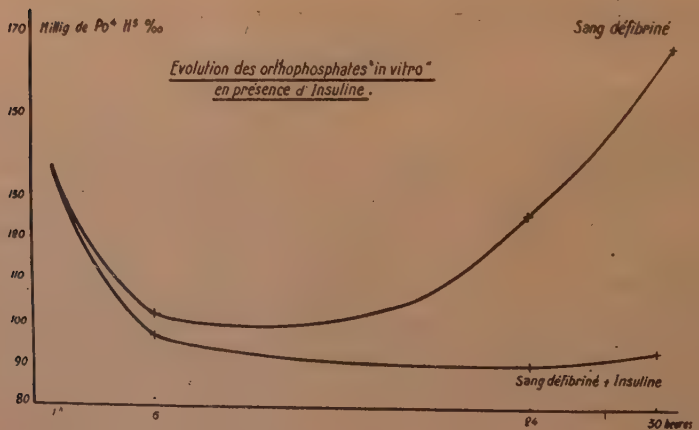
Le plateau final est situé bien au-dessus du plateau qu'atteint la courbe de phosphominéralisation sur fluore de Na. Avec une glycolyse bloquée nous rencontrons ici encore l'absence d'inflexion initiale. Le fluore de sodium inhibe l'hydrolyse d'un grand nombre de composés phosphorés, tandis que l'acide monoiiodacétique semble permettre l'hydrolyse de toute la fraction de P. acido-soluble.

§ III. — EVOLUTION DES ORTHOPHOSPHATES DANS DES SANGS DEFIBRINES ET INSULINES

A des sangs prélevés aseptiquement chez des diabétiques, nous avons ajouté quinze unités d'insuline pour 10 cc. de sang. Sur le sang maintenu à la température constante de 23°, nous avons suivi l'évolution des phosphates avec le temps. Une seconde portion du même sang simplement défibrinée et maintenue à la même température, était dosée simultanément. Nous avons étudié tout d'abord un diabétique qui, entré avec une forte acidose à l'hôpital, n'avait jamais encore été traité par l'insuline. Nous avons obtenu les résultats suivants :

Heures	Sang défibriné		Sang défibriné + insuline 15U/10 cc.	
	P	PO ⁴ H ³	P	PO ⁴ H ³
30 m.	43,6	138	43,7	138
6 h.	32,15	102	30,62	97
24 h.	39,74	126	28,55	90
30 h.	52,64	166	29,64	93

Courbe n° 13



L'insuline favorise la disparition du P. inorganique libre pendant la glycolyse.

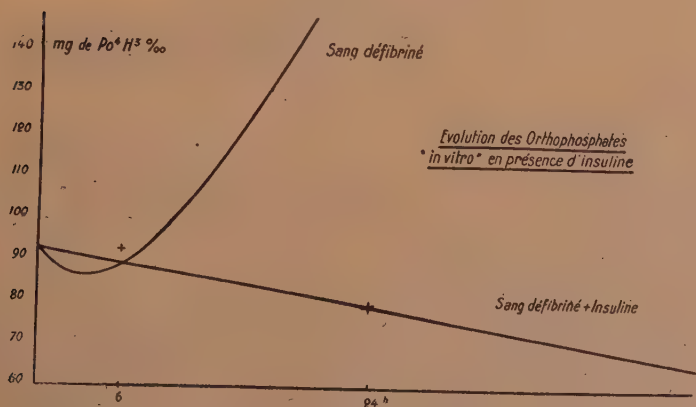
La phosphominéralisation paraît inhibée dans un tel milieu.

Nous avons ensuite fait la même comparaison chez un diabétique traité depuis longtemps par l'insuline. Nous avons trouvé des courbes analogues dans l'ensemble, mais différentes par quelques détails.

V. Gangrène diabétique du pied.

Heures	Glycémie, 2 g. 30			
	Sang défibriné		Sang défibriné + insuline 15 U/10 cc.	
	P	PO^4H^3	P	PO^4H^3
1 h.	29,43	93	29,43	93
6 h.	28,12	89	28,60	90
24 h.	60,00	190	25,17	80

Courbe n° 14



Les orthophosphates minéraux diminuent ici d'une façon régulière. Au bout de quarante-huit heures, on

n'a pas encore de phosphominéralisation. On peut donc affirmer qu'aussi bien « in vitro » qu'« in vivo », l'insuline entraîne la diminution des orthophosphates minéraux du sang.

§ IV. — LES ORTHOPHOSPHATES DANS LE DIABETE

Il est actuellement établi que les orthophosphates minéraux interviennent, aussi bien dans l'autoglycolyse du sang « in vitro », que dans les fermentations des glucides et leur utilisation énergétique au niveau des muscles. Il est très probable de même que le métabolisme normal des glucides dans l'organisme se fait par l'intermédiaire des phosphates. Les relations entre le métabolisme des glucides et celui des phosphates sont, en effet, aussi évidentes « in vivo » qu'« in vitro ».

1. *Les hormones ou diastases qui provoquent « in vitro » la formation de combinaisons organiques phosphatées produisent « in vivo » de l'hypophosphatémie accompagnée d'hypoglycémie.*

Winter et Smith (129) ont montré que l'hypoglycémie insulinique s'accompagne d'une diminution des phosphates. Ces constatations ont été faites aussi par Harrop et Benedict (130) et Florence et ses collaborateurs (131). Labbe et Fabrykant (132) ont aussi, sans y croire, mis en évidence cette hypophosphatémie insulinique.

Chez les diabétiques non traités par l'insuline ou traités depuis peu de temps, nous trouvons une phosphatémie moyenne de 34 mg de P 0/00 (107 mg. de PO_4H^3) (page 52). Par contre, chez les diabétiques traités depuis longtemps par l'insuline, nous trouvons une phosphatémie moyenne de 24 mg. de P 0/00

(133) (*J. Cayla* et *J. Dulcy*, 1933). D'autre part, les divers extraits de levure de bière (zymase, zymine, vitamine B² d'utilisation des glucides) qui font « in vitro » la synthèse des hexoses phosphates après injection provoquent de l'hypoglycémie chez des sujets normaux et font disparaître l'hyperglycémie et la glycosurie des diabétiques (*Winter* et *Smith* (129), *Collip* (134), *Funck* (135), *Corbitt* (136), *Hutchinson* (137), *Binet* (138), *Labbé* (139).

2°) *L'introduction de glucose dans l'organisme détermine une chute de la phosphatémie.*

Harrop et *Benedict* (130), en 1924 ont constaté que chez un sujet normal après un repas d'épreuve contenant deux cents grammes de glucose, on a un abaissement de la phosphatémie très marqué une heure après l'ingestion glucidique. Dès la deuxième heure, on assiste au relèvement progressif du taux de la phosphatémie. Les travaux de *Bolliger* et *Hartman* (140), de *Barrenscheen*, *Doleschall* et *Poper* (141), de *Reding* (142) confirment ces données.

Labbé et *Fabrykant*, qui ont constaté une faible diminution de la phosphatémie chez les sujets normaux, après ingestion de glucose, l'auraient trouvée plus considérable si leur dosage avait été effectué vingt minutes plus tard.

Cette chute de phosphatémie après ingestion est beaucoup moins marquée quand le métabolisme des glucides est troublé. C'est ainsi que *Bolliger* et *Hartman* (140) ont montré que chez le chien dépancréaté, la chute de la phosphatémie est beaucoup moins importante que chez le chien normal. *Hsiao-Chien-Chang* (143) a constaté qu'après ingestion de glucose, on ob-

serve une chute moins grande du taux des phosphates sanguins chez le diabétique que chez le sujet normal.

3. *L'injection intraveineuse de phosphates provoque de l'hypoglycémie.*

C'est ainsi que l'hyperglycémie adrénalinique est moins importante et disparaît plus vite si elle est provoquée trois heures après une injection d'orthophosphates. *Underhill* (144), *Elias et Weiss* (145), ont montré que l'injection de phosphate n'a aucune influence sur une glycémie normale alors qu'elle fait baisser l'hyperglycémie et abaisse la glycosurie.

Bolliger et Hartman (140), *R. Fiedlander et Rosenthal* (146), concluent que l'injection d'orthophosphates ne fait pas baisser l'hyperglycémie d'un chien dépancréaté, tandis qu'elle possède un effet hypoglycémiant dans le diabète humain où la sécrétion insulinique n'est pas entièrement supprimée. Enfin *Degrez, Bierry et Rathery* (147), en associant chez le chien dépancréaté les phosphates à l'insuline, font baisser l'hyperglycémie plus qu'après l'insuline seule.

Toutes ces expériences concourent à montrer que plus la phosphatémie est élevée, mieux le glucose est utilisé.

Il est impossible, connaissant ces expériences, de ne pas admettre que les phosphates interviennent activement dans le métabolisme des glucides dans l'organisme. Il est même possible de leur attribuer un rôle de premier plan dans la pathogénie du diabète sucré, surtout si l'on songe que les phosphates permettent la dégradation des glucides et des lipides et que justement dans le diabète sucré, nous avons les symptômes réunis d'une mauvaise dégradation

des glucides (hyperglycémie et glycosurie), et d'une imparfaite dégradation des acides gras (céto-acidose).

Nous avons essayé d'introduire la médication orthophosphatique dans la thérapeutique du diabète sucré chez l'homme. Ces recherches inédites ont été exécutées d'une part sous la direction de M. le Professeur agrégé *Puech*, avec la collaboration de M. *Lafon*, aux cliniques Saint-Eloi, d'autre part, dans le service de M. le docteur *Pagès*, à Font-d'Au-relle.

Nous réservant de revenir sur ce sujet et de publier en entier les observations, nous nous contenterons d'exposer ici un bref résumé des résultats que nous avons obtenus. Nous avons exposé, avec J. Dulcy, en 1933, le principe de cette thérapeutique. Nous allons ici le rappeler en quelques mots. L'insuline provoque l'abaissement des orthophosphates minéraux du sang. Or, plus le taux des orthophosphates minéraux est élevé, mieux le glucose est utilisé. Il faudra donc faire remonter le taux des orthophosphates pour que l'insuline agisse avec son meilleur rendement. Pour cela on devra dans le diabète sucré, associer à la thérapeutique insuliniennne, une thérapeutique orthophosphatique.

1. *L'insuline, associée aux orthophosphates donnés par voie entérale, est rendue plus active.*

Une atténuation de tous les symptômes du diabète se manifeste, qui persiste autant que dure la médication phosphatique. En particulier, dans un diabète insulino-résistant, par tuberculose pulmonaire évolutive associée, la glycosurie ne pourrait être supprimée par cent cinquante unités d'insuline quoti-

diennes (75 gr. de sucre en moyenne éliminés par 24 heures). L'association des phosphates par voie bucale, n'a pu faire disparaître la glycosurie, mais l'a réduite aux environs de 40 gr. par jour. La suppression des phosphates a été immédiatement suivie, malgré la continuation des doses quotidiennes de cent cinquante unités d'insuline, d'une élimination urinaire moyenne de 80 gr. de glucose par 24 heures.

2° Si les phosphates sont donnés par la voie parentérale ils atténuent les symptômes du diabète pendant toute la période de leur administration.

Mais, si après avoir administré les phosphates sous cette forme pendant un certain temps (quinze jours à deux mois), on les supprime brusquement, *on note, dès la suppression une forte diminution de l'hyperglycémie et de la glycosurie*, sans qu'apparaisse l'acidose (trois cas).

Un cas nous paraît particulièrement intéressant. C'est un malade traité dans le service de M. le docteur Pagès, à Font-d'Aurelle.

Au début d'avril 1933, M. D... présente une glycosurie avec acétonurie. (Réactions de Gérhardt et de Legal positives).

Sa glycémie est de 3 gr. 40 le 20 avril 1933.

Il est aussitôt mis au repos, et au régime lacté strict.

Lait trois litres

Sucre, 150 grammes

par jour

En même temps, on lui fait des quantités d'insuline variant de 65 à 80 unités par jour, sans pouvoir faire disparaître définitivement sa glycosurie. Cependant,

le traitement améliore progressivement son hyperglycémie.

Le 28 avril 1933	glycémie 2,10
10/5	— 2,10
26/5	— 2,30
9/6	— 2,20
1/7	— 2,10

La glycosurie persiste intermittente avec acétonurie. On décide donc le 3 juillet, de modifier et son régime et son traitement. Pour lutter contre la cétoacidose, on augmente la ration sucrée.

Lait, trois litres.

Sucre, 250 à 400 gr.

En même temps, le malade reçoit matin et soir une injection de

Insuline, quinze unités.

Phosphate disodique à 3 %, 10 cc.

L'acétonurie disparaît d'une façon définitive. La glycosurie persiste, mais très faible. Sa glycémie, le 21/7/33 est de 2 gr. Ce régime et ce traitement sont poursuivis pendant cinquante-trois jours, soit jusqu'au 26 août. Le malade a repris du poids, son état physique est bon. On décide alors la suppression de l'insuline et des phosphates, tout en le maintenant au régime lacté :

Lait : Trois litres.

Sucre: 250 gr.

On le surveille de très près, craignant l'installation d'un coma. A notre grand étonnement, au cours des jours qui suivent, 28, 29, 30, il ne présente ni sucre ni acétone dans ses urines. Une glycémie, faite le 30, donne 1 gr. 40 de glucose par litre. Au cours du mois de septembre, une recherche faite matin et soir

du sucre et de l'acétone reste constamment négative. Une glycémie faite le 8 octobre donne 1 gr. 20. De même au mois d'octobre, ni glycosurie, ni acétonurie. Le 16 novembre, la guérison paraissant définitive, on remplace le régime lacté strict par un régime à peu près équivalent.

Premier repas. —	Lait.....	500 cc.
—	Sucre	50 gr.
—	Pain	100 gr.
Deuxième repas. —	Pain	200 gr.
—	Un œuf	
—	viande grillée.	150 gr.
—	un fruit (poire, pomme).	
Troisième repas. —	Pain	100 gr.
—	Lait	500 cc.
—	Sucre	50 gr.
—	Un œuf	
—	Un fruit (pomme, poire)	

Malgré la suppression du régime lacté, il n'y a ni sucre, ni acétone dans les urines. L'amélioration se maintient. Cependant, après onze jours de ce régime la glycémie est remontée à 1 gr. 95, sans que la glycosurie ait réapparu.

Cette amélioration s'est ainsi maintenue pendant quelques mois.

Une explication physiopathologique de cette amélioration coïncidant avec la cessation de la thérapeutique est difficile. Cependant, ce fait est très remarquable et l'amélioration dès la suppression des orthophosphates parentéraux, semble se présenter dans tous les cas.

Nous comptons faire de nouveaux essais qui nous permettront de préciser quelle est la façon dont on doit conduire le traitement orthophosphatique pour en obtenir les meilleurs résultats.

§ V. — LES COURBES DE PHOSPHOMINÉRALISATION EN PATHOLOGIE

Le phénomène de la phosphominéralisation étant bien connu, il a aussitôt paru intéressant aux biochimistes de s'appliquer à rechercher ses modifications en Pathologie. C'est ainsi que G. M. GUEST l'a étudié dans un certain nombre d'états pathologiques et qu'avec J. DULCY, en 1933, nous avons déterminé les courbes de libération des orthophosphates chez des sujets porteurs de diverses tumeurs malignes (70).

Ne pouvant ici reproduire tous nos chiffres, nous nous contenterons de rappeler les conclusions que nous avons données dans notre travail. Les courbes de Phosphominéralisations étaient laissées sur des sang défibrinés maintenus à 23°.

1°) La quantité de Phosphates minéraux disparue paraît moindre à la sixième heure chez les cancéreux que chez les sujets sains.

A la 24^e heure, au contraire, la diminution des phosphates qui existe encore est nettement plus importante chez les cancéreux.

2°) L'étude des Phosphates à la 24^e heure nous a fait classer les cas en trois catégories. La troisième catégorie groupant les sujets chez lesquels la glycolyse est très ralentie et où il semble que les composés organiques Phosphates semblent ne pouvoir se former. (Epithéliomas cornés).

3°) Chez les porteurs d'Epithéliomas Malpighiens, nous avons noté un retard dans l'hydrolyse des composés organiques phosphatés.

4°) Il semblerait que les phosphates soient stimulées par la curiethérapie.

Nous avons, par la suite, étudié la phosphominéralisation chez les diabétiques. Nous avons noté une courbe parfaitement normale chez un diabétique non traité par l'insuline. Par contre, chez un diabétique qui recevait quotidiennement, depuis deux ans, de 30 à 45 unités d'insuline, nous avons trouvé une courbe de phosphominéralisation qui, après une partie descendante peu marquée montre une très rapide libération des orthophosphates. On peut attribuer cette libération accélérée, soit à une hyperactivité des phosphatases, soit à la présence dans ce sang d'une grande quantité de composés organiques phosphatés facilement hydrolysables.

Nous avons, en outre, étudié la phosphominéralisation chez les rachitiques avec BOUCOMONT.

Température, 35° Résultats en mg de P par lit.

	0 h.	4 h.	8 h.	24 h.
Cas n° 1	21,8	28,10	44,47	136 25
» 2	9,8	12,20	33,46	105,73
» 3	27,25	31,06	81,75	150,42

Alors qu'à cette température on trouve normalement (G. M. GUEST), à la quatrième heure un taux d'orthophosphates libres inférieur au chiffre initial, nous trouvons chez les rachitiques un taux très légèrement supérieur. Ceci nous indique qu'il existe chez eux une phosphominéralisation si rapide qu'elle n'est pas entièrement masquée par la glycolyse concomittente. Cette rapidité de la Phosphominéralisation passera par contre inaperçue si l'on se contente, comme nous, de doser les orthophosphates après un séjour de 24 heures à 37°.

Dans ce cas, ce n'est pas tant le facteur hydrolysant qui intervient mais plutôt la teneur en substrat hydrolysable.

Nos dosages ont porté sur des enfants normaux, sur des rachitiques non traités et chez des rachitiques irradiés.

Enfants normaux

Orthophosphates libérés en 24 h.

à 37° dans un litre de sang

	en P	en PO^4H^3
1	213.5	674.6
2	305.2	965.2
3	267.8	847.9
4	255.6	807.7
5	256.1	810.7
moyenne	260.0	821.6

Enfants rachitiques irradiés

a) Avec amélioration de la formule chimique (diminution de l'activité phosphatasique, augmentation de la Phosphatémie).

Orthophosphates libérés en 24 h.

à 37° dans un litre de sang

en Pmg. 0/00

en PO^4H^3 mg. 0/00

1	279	881
1 bis	300	948
3	239	759
3 bis	269	854
4	294	930
4 bis	304	964
6	309	980
moyenne	284	890

b) Sans amélioration de la formule chimique

2	250	791
2 bis	258	817
5	239	759
5 bis	278	881
moyenne	263	812

Enfants rachitiques non traités

1	114	361
2	305	964
3	291	954
4	299	948
5	95	302
6	247	784
7	123	389
8	291	923
9	239	756
10	218	787
11	195	617
12	253	803
13	239	758
14	199	630
15	295	935
16	249	789
17	244	773
18	252	797
moyenne	230	727

Ces dosages nous permettent de conclure :

1°) Les enfants rachitiques non traités ont un sang qui libère par phosphominéralisation moins d'orthophosphates que le sang des enfants normaux.

2°) Les enfants rachitiques irradiés sans amélioration de leur formule chimique présentent une libération d'orthophosphates très voisine de la libération normale.

3°)' Les rachitiques dont la formule chimique est améliorée présentent, par ailleurs, une phosphominéralisation plus importante que les enfants sains dans les mêmes conditions.

Ces résultats peuvent au premier abord paraître inexplicables. En effet, nous avons établi avec BOUCOMONT (ch. II, p. 169).

1°) Que les diastases qui libèrent les orthophosphates sont beaucoup plus actives chez les enfants rachitiques que chez les enfants normaux.

2°) Que l'irradiation par les ultra-violets diminue l'activité pathologique des diastases.

Nous voyons que, dans ces conditions, ce sont les sangs les moins riches en diastases qui libèrent le plus d'orthophosphates.

Ces faits deviennent très facilement explicables si nous nous retournons vers l'origine des orthophosphates libérés.

J'ai montré qu'environ 75 % des orthophosphates libérés provenaient du Phosphore acidosoluble organique qui, après le séjour d'un sang pendant 24 heures à 37°, a, en général, entièrement disparu. Si cette fraction acidosoluble facilement hydrolysable est peu abondante, elle sera entièrement épuisée bien avant la 24^e heure, et il ne restera plus que des substrats dont l'hydrolyse est plus lente et plus difficile.

Or, comme l'ont déjà démontré VALETTE et DUBOIS en 1931, le phosphore acidosoluble total du sang total est diminué chez les enfants rachitiques. Pour ces auteurs, cependant, la diminution globale serait plu-

tôt due à une diminution des orthophosphates libres qu'à une diminution du P. acidosoluble organique (esters phosphates).

KAY, en 1932, soutient que, dans le rachitisme expérimental, les esters phosphates sont très abaissés. Les dosages que nous avons effectués avec BOUCOMONT nous ont montré que l'abaissement du P. acidosoluble total provenait aussi bien de l'hypophosphatémie que de l'hypoestero-phosphatémie des rachitiques.

Enfants normaux

	P acido-sol. tot.	P acido-sol. org.	P minér.
	(esters phosphates)		
	en milligramme de P par litre		
Ga	255.5	193.4	62
La	295.7	243.4	52.3
T	248.0	204.4	43.6
Ga	219.4	169.2	50.1
Bi	221.3	166.8	54.5
Moyenne	248	195	53

Rachitiques irradiés avec amélioration de la formule chimique

S	238.5	180.2	58.2
C	272.5	226.6	45.9
D	238.4	197.0	41.4
Moyenne	250	201.2	49.0

Rachitiques non améliorés et rachitiques
non traités

Pe	186.8	146	40.8
Ni	170.3	135.5	34.8
Ca	175.0	148.6	26.4
Se	220.9	200.2	20.7
Moyenne	188	157.5	30.5

Les enfants normaux et les rachitiques améliorés présentent simultanément une plus faible activité phosphatasique, un taux plus élevé d'esters phosphates et une libération plus grande d'orthophosphate (en 24 h. à 37°), que les enfants rachitiques non traités.

Il est donc évident que la quantité des orthophosphates libérés par un sang maintenu à 37° pendant 24 heures, peut rendre compte de la teneur du sang en estersphosphates et non de l'activité phosphatasique.

CHAPITRE II

LES AGENTS DE LA PHOSPHOMINERALISATION

LES PHOSPHATASES

INTRODUCTION

GENERALITES SUR LES PHOSPHATASES

On désigne sous le nom de Phosphatases, les diastases qui, activant l'hydrolyse des esters phosphates ou de l'acide pyro-phosphorique, libèrent l'acide orthophosphorique à partir de ces composés.

Les phosphatases sont réversibles, et l'on ne doit pas appeler Phosphatases, les phosphatases agissant dans le sens de la synthèse. Cette appellation pourrait, en effet, faire croire que l'on a à faire à deux diastases distinctes, alors que, seulement, l'action de la *même* diastase est inversée par les conditions du milieu.

On a décrit autant de phosphatases que de substrats phosphatés dédoublables : (glycérophosphatase, hexoses mono et diphosphatase, sacharo monophosphatase, Pyrophosphatases, Nucléotidases, Lécithinases...).

Aucune preuve expérimentale n'est venue jusqu'ici confirmer cette conception de la pluralité des phosphatases. Par contre, H. D. KAY (148), apporte des preuves qui tendent à démontrer qu'il n'existe qu'une seule diastase, capable d'accélérer l'hydrolyse de toutes les combinaisons phosphatiques. Les preuves apportées par KAY sont les suivantes :

1°) Le p H optimum d'action est le même, pour l'hydrolyse des hexoses phosphates aussi bien que pour celle des glycérophosphates.

2°) Toutes conditions égales d'ailleurs, l'extrait d'un tissu hydrolyse avec la même vitesse, les divers esters phosphates.

3°) Lorsqu'un vecteur diastasique est mis en présence de deux substrats hydrolysables (glycérophosphate et Hexose phosphate), le degré d'hydrolyse est identique à celui obtenu en présence d'un seul des substrats.

Une de mes expériences peut être interprétée en faveur de l'identité de la glycérophosphatase et la pyrophosphatase.

J'ai pris deux sujets dont les phosphatases sanguines avaient des activités inégales (un rachitique guéri et un rachitique non traité).

J'ai déterminé la quantité de mes unités diastasiques que contenaient 1 cc. de chacun de ces deux sangs en leur faisant hydrolyser d'une part du β glycérophosphate de soude, d'autre part du pyrophosphate tétrasodique.

Avec l'hydrolyse du β glycérophosphate de soude à 1 % nous avons trouvé :

	Cas n° 1	Cas n° 2
U PO^4H^3	0,060	0,180
u PO^4H^3	1,449	4,320

Dans le cas n° 2, les Phosphatases sont trois fois plus actives que dans le cas n° 1. Avec l'hydrolyse du Pyrophosphate tétrasodique à 0 gr. 5 % nous avons trouvé :

	Cas n° 1	Cas n° 2
U PO^4H^3	0,0327	0,0983
u PO^4H^3	0,7845	2,3591

Les valeurs de U ne correspondent pas parce que, dans les conditions de la méthode, le Pyrophosphate additionne, sa couleur pour le dosage initial, ce qui diminue d'autant la valeur absolue de U. Cependant, ces chiffres sont vrais relativement, les deux déterminations étant faites dans des conditions identiques. Ici encore, nous voyons que les phosphatases sont exactement trois fois plus fortes dans le cas n° 2 que dans le cas n° 1.

Si les glycérophosphatases et les Pyrophosphatases sont des diastases distinctes, on peut s'étonner que leur activité varie dans le même sens, d'une quantité rigoureusement égale. Ce fait, est, par contre, très compréhensible, si l'on suppose que l'on n'a à faire qu'à une seule diastase pour dédoubler les deux substrats.

Il me semble, toutefois, d'après ce que j'ai exposé dans le paragraphe précédent (page 150) qu'il peut exister deux phosphatases :

1°) Une phosphatase qui hydrolyserait les combinaisons où l'acide phosphorique n'est lié que par une de ses fonctions acides (certains esters phosphates et les pyrophosphates du phosphore acido soluble).

2°) Une phosphatase hydrolysant les combinaisons de poids moléculaire élevé, où l'acide orthophosphorique est lié par deux des fonctions acides.

Cette classification pourrait s'accorder, d'une part avec les travaux de KAY et, d'autre part, avec ceux de J. ROCHE (149-150), qui distingue suivant le p H optimum d'action deux types de Phosphatases. E. I. KING (151), 1932, a mis en évidence dans la fraction acido-soluble des esters phosphates attaqués avec un p H optimum de 7,0 et des esters dont le p H optimum d'hydrolyse est 9,0.

Il semble, pour le moment, impossible de dire s'il y a une seule, un petit nombre ou un grand nombre de phosphatases.

§ I. — METHODE DE DOSAGE DE L'ACTIVITE PHOSPHATASIQUE DU SANG

La méthode que nous avons appliquée à la détermination de l'activité phosphatasique du sang, diffère de celles de KAY (148) et de ROBERTS (152), qui sont critiquables sur bien des points.

Nous avons employé une méthode simple, qui nous a paru susceptible d'échapper aux critiques que l'on pourrait faire aux précédentes méthodes.

Nous nous sommes préoccupés, d'une part, d'éviter de faire interférer la phosphominéralisation autonome du sang avec la libération diastasique étudiée et, d'autre part, de savoir si la méthode molyb-

do-colorimétrique pouvait s'appliquer au dosage des orthophosphates dans un milieu contenant du β glycérophosphate.

Nos recherches nous ont amené à appliquer notre méthode comme nous allons l'indiquer.

1°) *Solutions nécessaires*

a) Les solutions indispensables pour pratiquer un dosage des orthophosphates par, céruléo-molybdo-colorimétrie.

b) Solution de β glycérophosphate de Sodium à 1 %. Cette solution doit être préparée quelques instants avant l'usage. Dans un ballon de 100 cc. mettre :

β glycérophosphate de Na 1 gr.

Eau distillée jusqu'à 100 cc.

On verse ensuite le contenu du ballon dans une capsule en porcelaine, dans laquelle on maintient une ébullition de 10 minutes.

Au bout de ce temps, on prélève, à l'aide d'une pipette stérile, 5 cc. de la solution de glycérophosphate et on les introduit dans un tube à essai stérilisé, qui sera aussitôt bouché, puis refroidi. On a ainsi obtenu, en même temps qu'une stérilisation sommaire, un début d'hydrolyse du glycérophosphate, grâce auquel on pourra appliquer la méthode molybdo-colorimétrique aux dosages des orthophosphates, sans que l'erreur soit trop grande.

En usant d'une solution ainsi préparée, les atténuations colorimétriques du Bleu Phosphomolybdi-que les plus considérables, atteignent 15 % et l'atténuation moyenne (sur 25 cas), est de 5 % seulement.

2°) *Prélèvement et Phosphominéralisation autonome du sang à 37° pendant 24 heures*

Le sang est prélevé vers les neuf heures du matin, sur un sujet éveillé, à jeun et au repos. On le recueille aseptiquement dans un flacon stérilisé contenant des billes de verre.

Après défibrination, le flacon soigneusement bouché au liège est mis à l'étuve à 37° pendant 24 heures. On peut, pour activer l'autophosphominéralisation, agiter le flacon une dizaine de fois dans la journée.

3°) *Dosage de l'activité diastasique*

Au bout de 24 heures, on prélève avec une pipette stérile à complet écoulement, 1 cc. de sang que l'on verse dans le tube à essai contenant 5 cc. de la solution de β glycérophosphate de Na à 1 %, préparée extemporanément suivant nos indications. On rince la pipette avec la solution de glycérophosphate du tube, de façon à réaliser un mélange parfait du sang avec le substrat à hydrolyser.

Puis, avec la même pipette, on prélèvera 1 cc. du mélange sang + glycérophosphate et on le versera dans un verre à pied contenant 3 cc. d'eau distillée.

On désalbuminera par 1 cc. d'acide trichloracétique à 20 %.

Après une filtration sur filtre sans cendre, on effectue le dosage, comme nous l'avons indiqué dans la première partie. Le dosage doit être fait aussitôt après la filtration. Le tube à essai, dans lequel se fait l'hydrolyse, est maintenu à 37° pendant 24 heures. Au bout de 24 heures, on prélèvera 1 cc. du mélange qui sera dosé comme le précédent.

En multipliant par 0,006 le taux des orthophosphates exprimés en PO^4H^3 par litre, on aura la quantité de P minéral libre contenu dans le milieu de la réaction.

Si p = quantité de P minéral exprimé en PO^4H^3 présent dans le milieu de réaction à l'origine.

P = quantité de P minéral exprimé en PO^4H^3 présent dans le milieu de réaction à la 24^e heure.

$P - p$ = Phosphate libéré par les phosphatases contenus dans 1 cc. de sang en 24 heures à 37°.

§ II. — UNITE D'ACTIVITE PHOSPHATASIQUE

Il n'existe pas, actuellement, une unité phosphatase vraiment scientifique ; KAY (148) et ROBERTS (152) ont défini des unités qui sont très critiquables.

Unité de KAY. « L'unité d'activité phosphatase, libéré en 48 heures, à la température du laboratoire, au P H 7,6, 1 mg. de Phosphore inorganique exprimé en P, à partir d'un excès de glycérphosphate. »

Unité de ROBERTS. « L'unité d'activité phosphatase libère en 2 heures, entre 38 et 40°, à un p H voisin de 9,1 milligramme de P, à partir d'un excès de glycérphosphate. »

Les critiques que l'on peut adresser à ces deux unités peuvent porter sur les conditions et la durée d'action des phosphatases et sur l'expression des résultats.

Il est rationnel d'étudier l'action diastasique dans des conditions aussi voisines que possible des conditions vitales.

On se demande pourquoi KAY fait agir ces diastases à une température aussi peu déterminée que celle du laboratoire, et pourquoi ROBERTS a choisi 40°. Il semble que 37° est la température la plus indiquée. De même, le p H à conseiller est le p H le plus voisin de celui du sang circulant. Or, ROBERTS définit son unité diastasique pour un p H voisin de 9,0.

Enfin, ils sont d'accord sur l'emploi du β glycérophosphate de Sodium comme substrat à dédoubler. KAY l'emploie à 1 gr. 50 0/00 et ROBERTS à 10 gr. 0/00.

Il nous a paru bon d'adopter la solution de β glycérophosphate de sodium à 10 0/00, parce que, dans une telle solution, les globules ne sont pas hémolysés.

De plus, il est intéressant de noter que 1000 cc. d'une telle solution contiennent à peu près autant de Phosphore qu'un litre de sang total.

Les unités de temps, choisies par KAY et ROBERTS, ne sont guère plus logiques. Il semble que l'heure est l'unité de temps la meilleure, à moins que l'on préfère les 24 heures.

Enfin, on ne comprend pas pourquoi, l'acide orthophosphorique libéré, est exprimé en milligramme de Phosphore et non en milligramme de PO_4H^3 . Une unité diastasique scientifique et rationnelle devra tenir compte de tout ce que nous venons d'exposer. Voici l'unité d'activité phosphatasique que nous proposons :

L'unité d'activité Phosphatasique (U) libère en une heure, à 37°, à un p H voisin de 7,35, 1 milligramme de PO_4H^3 , à partir d'une solution de β glycérophosphate de sodium à 10 gr. 0/00.

La petite unité d'activité phosphatique (u) libre dans les mêmes conditions, 1 millig. de $\text{PO}_4 \text{ H}^3$ en 24 heures.

D'après notre méthode

$$\begin{array}{rcl}
 1 \text{ cc de sang contenant (P-p) u} & & \\
 1 \text{ cc} & \text{---} & \text{---} \quad (\text{P-p}) \text{ U} \\
 & & \text{---} \\
 & & 24 \\
 1000 \text{ cc} & \text{---} & 1000 (\text{P-p}) \text{ U} \\
 & & \text{---} \\
 & & 24
 \end{array}$$

§ III. — ETUDE DE L'ACTION DIASTASIQUE

Nous avons étudié les variations de l'activité phosphatique, en fonction de divers facteurs. Nous avons fait varier la concentration de l'agent diastatique et la concentration du substrat hydrolysable. Nous avons, en outre, étudié l'action du fluorure de sodium et de l'acide monoiodacétique sur l'activité phosphatique.

1 Vitesse de l'action diastatique en rapport avec la concentration du milieu en vecteur diastatique.

Dans un premier tube nous avons mis :

β glycérophosphate de Na à 1 % 5 cc.

Sang défibriné 1 cc.

Dans un deuxième tube :

β glycérophosphate de Na à 1 % 10 cc.

Sang défibriné 2 cc.

Les deux tubes, bouchés au liège, ont été maintenu pendant 24 heures à 37°.

Nos dosages nous ont donné les chiffres suivants :

	Tube I	Tube II
1 cc. de sang	2 cc. de sang	
à l'origine $\text{PO}^4 \text{H}^3$ par litre	161,15	160,42
dans le tube	0,96690	1,9350
à la 24e heure par litre	414,40	414,40
dans le tube	2,4864	4,9728
$\text{PO}^4 \text{H}^3$ libre en 24 h. à 37° enmg	1,5195	3.0378

La quantité d'orthophosphate libérée dans des conditions données, est rigoureusement proportionnelle à la teneur en vecteur diastasique.

Nous avons vérifié cette proportionnalité, en faisant varier la quantité de substrat hydrolysable, par rapport à la diastase.

Dans le tube 1 nous mettons :

β glycérophosphate de Ca à 1 % 10 cc.
Sang défibriné 2 cc.

Dans le tube 2

β glycérophosphate de Ca à 1 % 10 cc.
Sang défibriné 4 cc.

Au bout d'un séjour de 24 heures à 37° nous trouvons les résultats suivants :

	Tube I	Tube II
à l'origine $\text{PO}^4 \text{H}^3$ par litre	172,5	287,38
dans le tube	1,9700	4,0233
à la 24e heure par litre	900,0	1828,5
dans le tube	10,80	21,94
Orthophosphates libérés en 24 h à 37°	8,83	17,91

La libération est encore ici, dans des conditions assez différentes, à peu près directement proportionnelle à la teneur du milieu en vecteur diastasique.

2. Influence de la concentration du Substrat hydrolysable.

Nous avons réalisé dans des conditions identiques, l'hydrolyse de deux solutions de 1 à 2 % de β glycérophosphate de Sodium.

Tube I

β glycérophosphate de Na à 1 % 10 cc.

Sang défibriné 2 cc.

Tube II

β glycérophosphate de Na à 2 % 10 cc.

Sang défibriné 2 cc.

Nous avons trouvé les résultats suivants :

	Tube I	Tube II
à l'origine $\text{PO}^4 \text{H}^3$ par litre	71,41	71,40
» dans le tube	0,857	0,857
à la 24 ^e heure » par litre	479,55	517,15
» dans le tube	5,7546	6,2110
$\text{PO}^4 \text{H}^3$ libère en 24 h. à 37°	4 mg. 897	5 mg. 3540

Dans le deuxième cas, nous avons de même trouvé une libération légèrement supérieure à partir de la solution de β glycéro-phosphate à 2 %.

	Tube I	Tube II
à l'origine $\text{PO}^4 \text{H}^3$ par litre	70,38	70,38
» dans le tube	0,8446	0,8446
à la 24 ^e heure » par litre	334,65	403,65
» dans le tube	4,0158	4,8438
$\text{PO}^4 \text{H}^3$ libère en 24 h. à 37°	3,1712	4,0008

La vitesse d'Hydrolyse varie dans le même sens que la concentration du substrat à dédoubler.

3°) *Action du Fluorure de Sodium et de l'acide monoiodacétique sur l'activité phosphatasique.*

a) *Hydrolyses Phosphatasiques en milieux fluorés (2 gr. 0/00 de F Na).*

1. *Hydrolyse du β glycérophosphate de Na à 1 %*

	Sans FNa	FNa à 2 0/00
à l'origine $\text{PO}^4 \text{H}^3$ par litre	172,5	172,0
» dans le tube 1 mg.	0351	0320
à la 24 ^e heure » par litre	414,0	414,0
» dans le tube	2,484	2,484
$\text{PO}^4 \text{H}^3$ libéré en 24 h. à 37°	1 mg. 449	1 mg. 452

Le Fluorure de sodium, à une concentration de 2 gr. par litre, n'a aucune action sur l'hydrolyse phosphatasique du β glycéro-phosphate de sodium.

2. *Hydrolyse du Pyrophosphate tétrasodique à 0,5 %*

	Sans FNa	Avec FNa
à l'origine $\text{PO}^4 \text{H}^3$ par litre	304,98	304,98
» dans le tube	1,8298	1,8298
à la 24 ^e heure » par litre	574,77	569,25
» dans le tube	3,4486	3,4155
$\text{PO}^4 \text{H}^3$ libéré à 24 h. à 37°	1 mg. 6188	1 mg. 5857

Le Fluorure de sodium à 2 gr. 0/00 ne paraît guère avoir d'action sur l'hydrolyse phosphatasique des pyrophosphates.

b) *Hydrolyses Phosphatasiques dans des milieux contenant 0 g. 2 d'acide mono-iodacétique par litre.*

1). Hydrolyse du β glycérophosphate de Na

à 1 %	ss $\text{CH}^2\text{I CO}^2\text{H}$ av. $\text{CH}^2\text{I CO}^2\text{H}$	
à l'origine $\text{PO}^4 \text{H}^3$ par litre	160,4	162 1
» dans le tube	0,962	0,972
à la 24 ^e heure » par litre	488,5	391,9
» dans le tube	2,928	2,351
$\text{PO}^4 \text{H}^3$ libéré en 24 h. à 37°	1 mg. 966	1 mg. 379

L'acide monoiodacétique, à 0 gr. 2 0/00 paraît ralentir faiblement l'hydrolyse phosphatasique du β glycérophosphate de sodium.

2°) Hydrolyse du Pyrophosphate tétra-sodique à 0 g. 5 0/00

	ss $\text{CH}^2\text{I CO}^2\text{H}$ av. $\text{CH}^2\text{I CO}^2\text{H}$	
à l'origine PO^4H^3 par litre	304,98	304,98
» dans le tube	1.8298	1.8298
à la 24 ^e heure » par litre	574,77	552,00
» dans le tube	3.4486	3.312
PO^4H^3 libère en 24 h. à 37°	1 mg.6188	1 mg. 483

Ici aussi l'hydrolyse phosphatasique, du pyrophosphate tétrasodique, paraît légèrement ralentie par l'acide monoiodacétique à 0 gr. 2 0/00.

§ IV. — LES PHOSPHATASES EN PATHOLOGIE

Nombreux sont les auteurs qui ont étudié les variations physiologiques et pathologiques de l'activité phosphatasique des divers tissus. Les travaux les plus importants, à ce sujet, ont été faits par ROBISON (153), KAY (154), HEYMAN (155) et UMENO (156).

Les Phosphatases du sang total ont été étudiées par ROBERTS. KAY s'est surtout attaché à l'étude des phosphatases plasmatiques.

De l'ensemble de ces travaux on peut dégager les conclusions suivantes :

1°) Le sang des enfants est plus riche en phosphatases que celui des adultes.

2°) Les malades, présentant des affections ostéoarticulaires qui s'accompagnent de décalcification importante, ont un sang très riche en phosphatases : (ostéopathie fibrogéodique, ostéite de Pagès, ostéomalacie, Rachitisme). Les leucémiques ont aussi un sang très riche en phosphatases.

3°) Dans le rhumatisme chronique, l'hypervitaminose D..., il existe de l'hypophosphatasémie.

Nous avons avec J. BOUCOMONT étudié les phosphatases sanguines chez les enfants normaux et rachitiques.

Enfants indemnes de rachitisme

Cas n°	Nombre d'Unités phosphatasiques par litre de sang
23	44
24	73,1
25	59,9
26	71,5
27	42,7
Moyenne	58

Enfants rachitiques non traités.

Cas n°	U par litre de sang
1	67,5
2	67,0
6	65,0
8	102,0
9	64,0
10	169,0
11	156,0
12	135,0
15	83,0
27	106,0
30	145,0
33	115,4
Moyenne	106

Nous voyons que le sang des rachitiques contient deux fois plus de phosphatases que le sang des enfants normaux.

Nous avons étudié, en outre, avec J. BOUCOMONT, l'action de l'irradiation ultra-violette sur la teneur du sang en Phosphatase.

Nous avons noté, dans tous les cas, après un traitement prolongé, une nette diminution des phosphatases sanguines avec retour à la teneur normale.

Ces recherches inédites vont paraître incessamment.

I. — PARTIE ANALYTIQUE

1°) La méthode céruléo-molybdo-colorimétrique donne des résultats corrects, pour le dosage des orthophosphates minéraux des humeurs. Bien que la réaction ne soit pas spécifique, les substances gênantes sont à une telle concentration dans les milieux biologiques qu'elles ne peuvent provoquer que des erreurs par défaut.

2°) Cette méthode ne peut servir à faire un dosage d'orthophosphates sur un liquide biologique contenant une quantité indéterminée de fluorure, citrate ou oxalate.

3°) La désalbumination trichloracétique à 4 g. % est une désalbumination très peu brutale qui doit être employée dans cette méthode.

4°) La concentration en acide trichloracétique doit être la même dans la solution étalon et dans le filtrat à doser.

5°) Un filtrat trichloracétique de sang ou de globules libérant à la longue les orthophosphates de la fraction acido-soluble. Le dosage doit être effectué dès l'obtention du filtrat.

II. — PARTIE STATIQUE

(Les concentrations sont exprimées en mg. de P 0/00)

1°) Le taux moyen normal de la Phosphatémie du sang total est très voisin chez l'adulte de 35 mg, et chez l'enfant de 50 mg. par litre.

2°) Le dosage de la Phosphatémie du sérum de rétraction spontanée doit être fait sur un sérum séparé du caillot aussitôt après sa rétraction. Le taux moyen de la phosphatémie sérique est de 32 mg. 0/00.

3°) Le sérum de centrifugation se rapproche du plasma par sa teneur en orthophosphates minéraux. Le taux moyen est de 28 mg. 0/00 chez l'adulte et de 55 mg. chez l'enfant.

4°) Le taux moyen de la Phosphatémie plasmatique est de 30 mg 0/00.

5°) Dans les variations physiologiques ou pathologiques des orthophosphates minéraux, à une concentration plasmatique faible (Hyphosphatémie plasmatique) correspond un rapport orthophosphates minéraux globulaires sur orthophosphates minéraux plasmatiques élevés, à une concentration moyenne un rapport moyen, et à une concentration élevée un rapport bas.

6°) La Phosphatorachie moyenne est de 15 mg. 0/00.

7°) L'ensemble des variations de la Phosphatorachie au cours des états pathologiques n'est pas caractéristique.

8°) Le rapport hemorachidien des orthophosphates minéraux a une valeur moyenne de 0,55.

9°) Il existe chez les enfants rachitiques une hypophosphatémie notable (21 mg.).

10°) Les rétentions azotées aiguës peuvent, comme les rétentions azotées chroniques, s'accompagner d'hyperphosphatémie.

11°) L'hyperphosphatémie est parallèle à la rétention azotée dans les néphrites chroniques.

12°) Le rôle de la rétention des orthophosphates dans la pathogénie de l'acidose rénale ne peut être précisé que si l'on considère la modalité de la rétention.

13°) Au cours d'une néphrite, une phosphatémie sérique supérieure à 65 mg. 0/00 semble être un signe de gravité d'une très grande valeur pronostique.

III. — ETUDE DYNAMIQUE DES ORTHOPHOSPHATES MINERAUX

1°) Il n'existe pas de relation entre le taux initial de la phosphatémie et l'allure générale de la courbe de Phosphominéralisation.

2°) Toutes les courbes de Phosphominéralisation sanguine présentent, au voisinage de l'origine, un minimum ou une inflexion plus ou moins nette.

3°) La plus grande partie (75 %) des phosphates libérés au cours de la phosphominéralisation sanguine prouvent des esters Phosphates de la fraction acido-soluble.

4°) L'abaissement de la température ralentit la libération des orthophosphates et paraît supprimer l'inflexion voisine de l'origine.

5°) Cette inflexion est d'autant moins nette que la glycolyse est plus lente.

6°) Dans un milieu où la glycolyse est inhibée (FNa à 2 g 0/00 — $\text{CH}_2\text{I COOH}$ à 0 g 2 0/00, la courbe ne présente ni minimum ni inflexion.

7). L'insuline provoque « in vitro » la diminution des orthophosphates libres du sang et paraît empêcher ou retarder la phosphominéralisation.

8). Dans la thérapeutique du Diabète sucré, l'insuline sous-cutanée voit son action rendue plus efficace par l'administration entérale simultanée d'orthophosphates.

9°) Si les orthophosphates sont administrés par la voie parentérale ils atténuent les symptômes du dia-

bête pendant toute la période d'administration, mais dès leur suppression on note une forte et brusque diminution de la glycémie avec disparition de la glycosurie.

10°) Les courbes de Phosphominéralisation peuvent, dans certains cas, donner une idée de l'activité phosphatasique.

11°) La quantité d'orthophosphates libérées en 24 heures à 37 ° est en rapport avec la teneur du sang en Phosphore acido-soluble et non avec l'activité phosphatasique.

12°) Les critiques que nous adressons aux méthodes de KAY et de ROBERTS pour le dosage de l'activité phosphatasique nous amènent à décrire une nouvelle méthode et à définir une nouvelle unité.

13°) La vitesse d'hydrolyse des esters Phosphates est directement proportionnelle à la teneur du milieu en vecteur dratasique.

14°) La vitesse d'hydrolyse des esters Phosphates varie dans le même sens que la concentration du substrat à hydrolyser.

15°) Les Phosphatases ne sont pas influencées par le fluorure de Sodium à 2 0/00. L'acide monoiodacétique à 0,2 0/00 semble ralentir leur action.

16°) Le sang des rachitiques contient deux fois plus de phosphatase que le sang des enfants normaux.

BIBLIOGRAPHIE

I. — GENERALITES. — PARTIE ANALYTIQUE

- 1 BOBERT L. J. et HASTINGS A. B. — *Jour. biol. Chim.* T. 94, 1931.
- 2 JAVILLIER et FABRYKANT. — Le Phosphore sanguin chez l'homme. *Bul. Soc. Chim. Biol.* 1931, T. 13, 686-696.
- 3 PORTE A. — La Phosphatémie. *Thèse Doct. en Médecine*. Bordeaux, 1914.
- 4 BORDE. — Analyse chimique du sang. Etude critique des dosages de Cl, P, Glucose, Azote non protéique, urée. Ac. urique. *Thèse Doctoral en Pharmacie*. Bordeaux, 1922.
- 5 CLARK S. G. — Dosage de petites quantités de Phosphates dans les aciers par la méthode de Pouget et Chouchak. *Analyst.* 56, 518, 1931.
- 6 OSMOND F. — *Bull. Soc. Chim.*, 1887, p. 745.
- 7 TAYLOR et MILLER. — *J. Biol. Chim.*, 1914, 215.
- 8 DENIGES G. — *C. R., Soc. Biol.* 1921, 175 et *C. R.* 1920, t. 171, p. 382.
— et *Bull. Soc. Pharmacie, Bordeaux*, 1927, 65^e année. 3, 12, 107-118.
- 9 BELL R. D. et DOISY E. A. — Rapid colorimétrie method for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. Biol. Chim.* 1920, 44-55.
- 10 BRIGGS A. P. — A modification of the Bell Doisy phosphate method. *Journ. Biol. Chim.* 1922, 53, 13 et *Journ. Biol. Chim.* 1924, 59, 255.
- 11 BENEDIKT et THEIS. — *Journ. Biol. Chim.*, 1924, 41.

- 12 FISKE G. H. et SUBARROW Y. — The colorimetric determination of phosphorus. *Jour. Biol. Chim.*, 1926, 66, p. 375.
- 13 KUTTNER T. et COHEN H. R. — A molybdic acid. Stannous chloride réagent : the microestimation of phosphate and Calcium in Pus Plasma and Spinal fluide. *J. Biol. Chim.*, 75, 11, 1927, p. 517-531.
- 14 KUTTNER et LICHTENSTEIN. — *J. Biol. Chim.*, 1930, 86, p. 671.
- 15 HINSBERG K. et LASZLO D. — Versuche zur Bestimmung von Phosphore sauren. *Bioch. Zeitschr.* 1924, 91, 592.
- 16 DAVIES D. R. et DAVIES W. C. — Dosage colorimétrique du Phosphore en présence de substances gênantes. *Broch. Jour.* 12, 1932, 26, 2046.
- 17 BARRENSCHEEN H. K., DOLESCHALL F. et POPPER L. — Beiträge zum Problem des Blutzucker und Phosphore saurer kurative. *Broch. Zeitschr.* 1926, 177, 39.
- 18 EGGLETON G. P. et EGGLETON P. — A method of estimating phosphagen and some other phosphorus compounds in muscle Tissue. *Journ. of physiology*, 1929, 68, 193.
- 19 ROCHE A. et ROCHE J. — Recherches sur l'existence du lactacidogène dans le sang. *C. R. Acad. Sciences*, 1927, 185, 870, et Roche J., recherche sur le Phosphore acido-soluble du sang. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1930, 12, 636-656.
- 20 BOMSKOW C. — *Zeit. Physiol. Chim.*, 1932, 210.
- 21 GREENWALD et LÉVY. — Nature du Phosphore acido-soluble du Plasma. *Jour. Biol. Chim.*, 1932, 97. Proc. xci.
- 22 BODANSKY A. — Recherches sur la Phosphatase, *J. Biol. Chim.*, 12, 1932, 99, 197.
- 23 ISAACS — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, 6, p. 157.
- 24 G. BERTRAND. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, 6, p. 636.
- 25 FOULGER. — *Journ. of Amer. Chim. Soc.*, 1927, 49, p. 429.
- 26 KING E. J. — Méthode col. de dosage de Si. *Bul. Soc. Chim. Biol.*, 1930, 12, p. 903 à 909.
- 27 CRISTOL P. et CAYLA J. — Sur un nouveau bleu conjugué du molybdène : Le Bleu boromolybdique, *C. R.* 1932, 194. 1942-1945.
- 28 CRISTOL P. et CAYLA J. — Obtention de nouveaux composés bleus du molybdène : conjugués céruléo molybdiques. *Bul. Soc. Chim. France*, 1932, 51, 1105.
- 29 HESS A. F. et GUTMAN M. B. — *Journ. of Amer. Med. Soc.*, 1922.
- 30 DENIS W. et L. VON MEYRENBURG. — *Jour. Of. Biol. Chim.*, 1922, 52, 1.

- 31 GILBERT B. E. et SMITH J. B. — *Jour. Of. Biol. Chim.*, 1927, 74, 223.
- 32 GOEBLER O. H. — *Jour. Biol. Chim.*, 12, 1932, 99.
- 33 BERZÉLIUS. — *An. Ph. Chim. Pogg*, 1826, 6, p. 348.
- 34 LAUTIÉ R. — Contribution à l'étude de la chimie du Molybdène. *Thèse de Doctorat ès Sciences Physiques*. Montpellier, 1933.
- 35 DENIGÈS G. — Dosage de l'ion Phosphorique dans les terres et les engrais par ceruléomolybdimétrie. *Bul. Soc. Pharmacie de Bordeaux*. 1928, 3, 128-130.
- 36 HALDANE J. B. S., WIGGLESWORTH V. B. et WOODROW C. E. — *Proc. Roy. Soc.*, 1924, B 96, 1.
- 37 HAVARD R. E. et REAY G. A. — *Jour. of Physiology*. 1926, 61, 35.
- 38 KNIPPING H. W. — *Zeitschr. Biol.*, 1922, 77, 164.
- 39 HEYER G. R. et GROTE W. — *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 1923, 53, 283.
- 40 HAVARD et REAY G. A. — *Biochem. Journ.* 1925, 19, 882.
- 41 GOLLWITZER-MEIER K., KROETZ C. — *Biochem. Zeitschr*, 1925, 154, 82.
- 42 LABBÉ M. et FABRYKANT M. — *Le Phosphore*. Masson. Paris 1933, p. 178-179.
- 43 MERRIT H. H. et BAUER W. — *Jour. of Biol. Chim.*, 1931, 90, 215-232.
- 44 PERLZWEIG W. A., LATHAM E. et KEEFER C. S. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1923, 21, 33.
- 45 SOKHEY S. S. et ALLAN E. N. — *Biochem. Journ.* 1924, 18, 1170.
- 46 HARROP G. A. et BÉNÉDIKT E. M. — *Jour. Biol. Chim.*, 1924, 59, 683.
- 47 SALVERSEN H. A. — *Jour. Biol. Chim.*, 1923, 56, 443.
- 48 CHABANNIER H. et LOBO-ONELL. — L'acidose post-opératoire. *Rapports et informations de 31^e session de Soc. Française d'Urologie*. 1931.
- 49 KAY H. D. — *Journ. Biol. Chim.* 1931, 93, p. 728.
- 50 SAHYUN M. — *Journ. Biol. Chim.*, 1933, 101, 6.
- 51 CRISTOL P. — Etude sur la désalbumination du sang et des humeurs, en vue du dosage de l'Azote total non protéique. 1 vol., 122 pages. Maloine, Valat, 1928.

II. — REPARTITION DES ORTHOPHOSPHATES MINERAUX
DANS LES HUMEURS A L'ETAT NORMAL ET PATHOLOGIQUE

- 52 WALKER B. S. et HUNTSINGER M. E. — *The Journal of Laboratory and Clinical Médecine*. Saint-Louis, 1930, 16., p. 247.
- 53 LABBÉ M. et FABRYKANT M. — *Le Phosphore Masson*. Paris, 1933, p. 110-112.
- 54 WIGGLISWORTH et WOODROW C. E. — *Proc. Royal. Soc. Ser. B*, 1924, 95, 558.
- 55 STANFORD R. V. et WHEATLEY A. H. M. — *Biochim. Journ.* 1925, 19, 706.
- 56 HAVARD R. E. et REAY G. A. — *Biochem. Journ.* 1925, 19, 882.
- 57 BRAIN R. T., KAY H. D. et MARSHALL P. G. — *Biochem. Journ.*, 1928, 22, 628.
- 58 MOREL A. et AALANN F. K. — *C. R. Soc. Biol.* 1928, 98, 1345.
- 59 IONESCO-MATIŢU A. et VITNER M. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, 11, 776.
- 60 JAVILLIER M. et FABRYKANT M. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1931, 13, 686-698.
- 61 ZUCKER T. F. et GUTMAN M. B. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1921-1922, 19, 169.
- 62 BUELL M. V. — *Jour. Biol. Chim.*, 1923, 56, 97.
- 63 LAWACZECK H. — *Klin Woch* 1925, 8, 1858.
- 64 BUCKMAN T. E., MINOT G. R., DALANG G. A., WELD M. — *Arch. inf. Med.*, 1924, 34, 181.
- 65 BARRENSCHEEN H. K., DOLESHALL et POPPER. — Voir n° 17.
- 66 KAY H. D. et BYROM F. B. — *British Journ. exper. Pathology*. 1927, 8, 240.
- 67 EGGLETON et EGGLETON. — Voir n° 18.
- 68 BULLOCK J. K. — *Amer. Journ. Diseases. Child.*, 1930, 40, 725.
- 69 GUEST G. M. — *Journ. of Clinical investigations*. 1932, 11, 555.
- 70 CAYLA J. et DULCY J. — *Arch. Soc. Sciences, Méd. et Biol., Montpellier*. 1933, 14, 489-532.
- 71 HESS A. F. et GUTMAN M. B. — *Journ. Americ. Med. Assoc.*, 1922, 78, 29.
- 72 ANDERSON G. H. — *Biol. Journ.* 1923, 17, 48.
- 73 HEYMANN W. — *Zeitschr. Kinderheilk.* 1930, 49, 6, 761-767.
- 74 BLOCH C. E. et FABER F. — *Acta Pédiatrica*, 1930, 31, 10, 10.
- 75 ELIAS H. et WEISS S. — *Wien. Arch. inn. Méd.*, 1922, 4, 29.

- 76 BYROM E. B. — *British. journ. exper. Pathol*, 1929, 10, 10.
- 77 HOFF A. — *Biochim. Zeitschr.* 1929, 209, 195.
- 78 HESS A. F. et LUNDAGEN M. A. — *Process. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1921-22, 19, 380.
- 79 JONES M. R. et NYE L. L. — *Journ. Biol. Chim.*, 1921, 47, 321.
- 80 TALBOT F. B. — *Physiological Reviews*, 1925, 5, 477-517.
- 81 CHAPTAL J. — Recherches sur la réserve alcaline du plasma-sanguin chez l'enfant à l'état normal et pathologique. *Thèse Doctorat Médecine*, Montpellier, 1927.
- 82 MARRIOTT W. Mc KUM et HAESSLER F. H. — *Jour. Biol. Chim.*, 1917, 32, 241.
- 83 HOWLAND J. et KRAMER B. — *Amer. Jour. Dis. Child.*, 1921, t. 22, 105.
- 84 TOLSTOI E. — *Journ. Biol. Chim.* 1923, t. 55, 157.
- 85 SALVESEN H. A. et LINDER G. C. — *Journ. Biol. Chim.*, 1923, 58, 617.
- 86 PETERS J. P. et VON SLYKE D. D. — *Quantitative clinical chemistry*, 1931, 1, 1098. Bailliére, London.
- 87 MEYSENBURG L. — *Amer. Journ. Dis. Child.* 1922, 24, 200.
- 88 GYORGY P. — *Monatsschr. Kinderherlk.* 1928, t. 38, 31.
- 89 RONA P. et TAKAHSHI D. *Biochem- Zeitschr.* 1913, 49, 370.
- 90 CUSHNY A. R. *Journ. of Physiol.* 1919-1920, 53, 391.
- 91 NEUHAUSEN B. S. et PINCUS J. B. *Journ. Biol. Chim.*, 1923, 57, 99.
- 92 BLOOR W. R. *Journ. Biol. Chim.*, 1918, t. 36, 49.
- 93 Mac KELLIPS G. M., De YOUNG I. M. et BLOOR W. R. *Journ. Biol. Chim.*, 1921, t. 47, 53.
- 94 KERR S. E. — *Journ. Biol. Chim.*, 1926, 67, 689.
- 95 FLORENCE G., ENSELME J. et TSEN ZOLA. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928,, 10, 675.
- 96 Mac KELLIPS, De YOUNG, BLOOR. — Voir 93.
- 97 WILLS L. — *Brit. Med. Journ.*, 1925, t. 1, 302.
- 98 BRAIN, KAY et MARSHALL. — Voir 57.
- 99 MESTREZAT. — *Journ. Phy. et Path.*, 14, 504.
- 100 APELT et SCHUMM. — *Arch. Psychmat. und Kervenks.* 1908, t. 44, 84.
- 101 COHEN. — *Quart. Journ. Méd.*, 1924, t. 17, 289
- 102 MERRIT et BAUERS. — *Journ. of Biol. Chim.* 1931, t. 30, 215-232.
- 103 HUGUES P., CAZEJUST-VIALLEFONT H. et RATIÉ A. — *Rev. d'oto-neuro-ophtalmo*, 1932, t. 10, 693-695.

- 104 FLEISCHER R. — *Deutsch. Arch. Klin. Med.* 1881, t. 29, 129.
- 105 JEAMBRAU E., CRISTOL P. et BONNET A. — *Bullet. Mens. Ass. Franc. Urol.* 1925.
- 106 GREENWALD I. — *Journ. Biol. Chim.*, 1915, t. 21, 29.
- 107 BISCHOFF F., MAXWELL L. C. et HILL E. — *J. Of. Biol. Chim.*, 1931, t. 90, 331-339.
- 108 DE WESSLOUR, O. L. V. — *Lancet*, 1923, 205, 163.
- 109 MARRIOTT W., Mc KIM et MOWLAND J. — *Arch. int. Med.*, 1916, 18, 708.
- 110 DENIS W. et MINOT A. S. — *Arch. int. Med.*, 1920, 26, 99.
- 111 BOYD G. L., COURTNEY A. M. et Mac LACHLAN I. F. — *Amer. Journ. Dis. Child.*, 1926, t. 32, 29.
- 112 SCHMITZ H. W., RODHENBURG E. L. et MYERS V. C. *Arch. Int. Méd.*, 1926, t. 37, 233.
- 113 CRISTOL P. et CAYLA J. — Influence de la concentration plasmatique des phosphates minéraux sur leur répartition entre les globules et le plasma-sanguin. *Bull. Soc. Chim. France*, 1933, t. 53, 862.

III. — ETUDE DYNAMIQUE DES ORTHOPHOSPHATES MINÉRAUX

- 114 BIERRY H. et MOQUET L. — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. 91, 250.
- 115 IWING S. T. — *Brochem. Journ.* 1926, t. 20, 1320-1325.
- 116 BALACHOVSKI S. et GUINSBOURG. — La transfusion du sang conservé. *Le Sang*. 1934, t. 8, n° 6, 622-643.
- 117 RONA P. et IWASAKI K. *Brochem. Zeitscher*, 1927, t. 174, 239-307.
- 118 LÛB W. — *Brochem. Zeitschz.* 1911, t. 32, 43-58.
- 119 RONA P. et AANHEIM F. — *Brochem. Zeitsch*, 1913, 48, 35.
- 120 A. ROCHE et J. ROCHE. — De la participation d'un ether Phosphorique à la glycolyse du sang « in vitro », *C. R. Soc. Biol.*, 1927, t. 97, 802.
- 121 A. ROCHE et J. ROCHE. — Recherches sur la participation d'une combinaison phosphorée à la glycolyse du sang « in vitro ». *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, t. 11, 549-599.
- 122 A. ROCHE et J. ROCHE. — Phosphatases et glycolyse dans le sang. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1933, t. 15, 520-530.
- 123 JOST H. — *Zeitscher. Physiol. Chim.* 1927, t. 165, 171.

- 124 BARRENSCHEIN H. K. et VASARHELYI B. — *Brochem-Zeitschr.* 1931, t. 230, 330.
- 125 BARRENSCHEIN H. K. et BRAUN K. — *Brochem Zeitschr.* 1931, t. 231, 144.
- 126 BARRENSCHEIN H. K. et BENESCHOVSKY H. — *Brochem Zeitschr.* 1933, t. 265, 159, 168.
- 127 MORGULIS S. et BARKUS O. — *Journ. Biol. Chim.* 1925, t. 63, 1.
- 128 PIAZZA G. — *Chem. abstraits*, 1926, t. 1, 211.
- 129 WINTER L. B. et SMITH W. — *Journ. of. Physiol.* 1924, t. 58, 327.
- 130 HARROP et BÉNÉDIKH. — Voir n° 95.
- 131 FLORENCE G., ENSELME et TRENZOLA. — Voir n° 95.
- 132 LABBE M. et FABRYKANT M. — *Le Phosphore. Masson*, 1933, p. 172 et suivantes.
- 133 CAYLA J. et DULEY J. — Quelques données nouvelles sur le rôle des Phosphates dans le diabète. *Cahiers Pratique, Méd. Chirurg., Avignon*, Mars-Avril, 1933.
- 134 COLLIP J. B. — *Jour. Biol. Chim.*, 1923, t. 56, 513.
- 135 FUNCK C. et CORBITT H. B. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1923, 20, 422.
- 137 HUTCHINSON H. B., SMITH W., WINTER L. B. — *Brochem. Jour.* 1923, t. 17, 683.
- 138 LABBÉ M. et FABRYKANT M. — *C. R. Soc. Biol.* 1931, t. 108, 615.
- 139 BINET, FABRE et BARGETON. — *C. R. Soc. Biol.* 1933, Mai.
- 140 LABBÉ M., NEPVEU et GRINGOIRE J. — *C. R. Acad. Méd.*, 1933, Mai.
- 141 BARRENSCHEIN H. K., DOLESCHALL F. et POFFER L. — *Brochem. Zeits.* 1926, 177, 50.
- 142 REDING R. — *Le terrain cancéreux et cancérisable. Masson*, 1932.
- 143 HSIAO CHIEN CHANG. — *Chin. jour. Pysiol.*, 1928, t. 2, 195.
- 144 UNDERHILL F. P. — *Journ. Biol. Chim.* 1916, t. 25, 447.
- 145 ELIAS et WEIS. — Voir n° 75.
- 146 FRIEDLANDER et ROSENTHAL W. G. — *Arch. Exper. Pathol. Pharmac.*, 1926, t. 112, 65.
- 147 DESGREZ A. BIERRY H., RATHERY F. — *C. R.* 1928, t. 180, 1554.
- 148 KAY H. D. — *Jour. Biol. Chim.*, 1930, t. 89, 235. *Jour. Biol. Chim.* 1931, t. 91, 135.
- 149 ROCHE J. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1931, t. 13, 841.
- 150 ROCHE J. — *C. R. Soc. Biol.* 1931, t. 107, 640.

151 KING E. J. — *Brochem. Journ.* 1932, t. 26.

152 ROBERTS W. M. — *Brit. Journ. exp. Pathol.* 1930, t. 11, 90.

153 ROBISON R. — *Brochem. Journ.* 1923, t. 17, 286 et ROBISON et
SOANNES. K. M. ; *Brochem. Journ.* 1924, 18, 740.

154 KAY H. D. — Voir n° 148.

155 HEYMANN W. — *Acta peditrica*, 1930, t. 11, 348-355.

156 Umeno *Brochem. Zeitsch*, 1931, 231-345.

TABLE DES MATIERES

	Pages
AVANT-PROPOS	7
INTRODUCTION. — Le Phosphore inorganique : Intérêt de son étude	9
PREMIERE PARTIE. — <i>Etude d'une méthode convenant au dosage des orthophosphates inorganiques dans les milieux biologiques</i>	15
Historique des méthodes molybdo-colorimétriques	17
CHAPITRE I. — <i>Etude théorique de la molybdo colorimé- trie : Les substances gênantes</i>	21
§ 1. — Substances réagissant sur l'acide molybdique	22
§ 2. — Substances agissant sur les orthophosphates	39
§ 3. — Substances agissant sur le Bleu Phosphomolybdi- que	44
CHAPITRE II. — <i>Etude Pratique de la Cérulio molybdo co- lorimétrie</i>	47
§ 1. — Le Prélèvement	47
§ 2. — Les manœuvres du dosage	50
§ 3. — Exposé de la méthode de dosage	55

DEUXIEME PARTIE. — *Etude statique des orthophosphates*

<i>inorganiques</i>	59
---------------------------	----

CHAPITRE I. — *Taux normal des orthophosphates inorganiques des humeurs. Phosphatémie et Phosphatorachie* 61

§ 1. — Les orthophosphates minéraux du sang total	62
§ 2. — Les orthophosphates minéraux du sérum	75
§ 3. — Les orthophosphates minéraux du Plasma	82
§ 4. — Phosphatémie globulaire et répartition globulo-plasmatique des Phosphates à l'état normal	85
§ 5. — Phosphatorachie	90
§ 6. — Chimisme hemorachidien des orthophosphates minéraux	94

CHAPITRE II. — *Taux des orthophosphates* inorganiques des humeurs en Pathologie*

§ 1. — Répartition globulo-plasmatique des orthophosphates minéraux à l'état pathologique	97
§ 2. — Hypophosphatémie	102
§ 3. — Hyperphosphatémie	105
§ 4. — L'hyperphosphatémie et la pathogénie de l'acidose d'origine rénale	110
§ 5. — Taux des orthophosphates inorganiques dans les liquides pathologiques	114

TROISIEME PARTIE. — *Etude dynamique des orthophosphates inorganiques : Phosphominéralisation*

	117
--	-----

CHAPITRE I. — *Le Phénomène de la Phosphominéralisation* 119

§ I. — Evolution aseptique des orthophosphates dans le sang défibriné. Origine des orthophosphates libérés	120
§ II. — Rapport entre les courbes de Phosphominéralisation et les courbes de glycolyse	127
§ III. — Evolution des orthophosphates dans des sangs insulínés et défibrinés	138
§ IV. — Les orthophosphates dans le diabète	140
§ V. — Les courbes de phosphominéralisation en pathologie	147

CHAPITRE II. — <i>Les agents de la phosphominéralisation :</i>	
<i>Les Phosphatases</i>	155
Introduction : Généralité sur les phosphatases	155
§ I. — Méthode de dosage de l'activité phosphatasique du sang	158
§ II. — Unité d'activité phosphatasique	161
§ III. — Etude de l'action diastasique	163
§ IV. — Les phosphatases en pathologie	167
CÓNCCLUSIONS	171
BIBLIOGRAPHIE	175

En ma qualité de Censeur
de Tour, j'ai lu la Thèse ayant
pour titre :

« Recherches sur les
Orthophosphates minéraux
(prophore inorganique)
des humeurs »
(Dosage, Répartition, Evolution)

par M. Jean CAYLA

Je pense que la Faculté peut
en permettre l'impression.

Montpellier, le 25 juin 1934,

Le Professeur,
CRISTOL.

Vu :

Montpellier, le 26 juin 1934.

Le Doyen,
EUZIERE.

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 26 juin 1934.

Le Recteur,
TAILLIART.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

IMPRIMERIE MARI-LAVIT
1, Rue de Sauvages, 1
MONTPELLIER

1934





ERRATA

- Page 1, ligne 5, lire Répartition au lieu de Réparation.
Page 10, ligne 13, lire β oxydation au lieu de B oxydation.
Page 10, ligne 20, lire contraction au lieu de construction
Page 12, ligne 8, lire: Cette.
Page 13, ligne 26, lire Phospho-organiques.
Page 19, ligne 20, lire: Amérique.
Page 23, ligne 20, lire: orthophosphorique.
Page 25, ligne 3, lire: donnent.
Page 27, ligne 4, lire: suivi.
Page 37, ligne 4, lire: halogénés au lieu de halogènes.
Page 40, ligne 6, lire: supprimée.
Page 43, ligne 23, lire: pourrait.
Page 48, ligne 14, lire: Reay et non Reayg.
Page 49, ligne 29, lire: orthophosphates.
Page 49, ligne 29, lire: presque.
Page 50, ligne 6, lire: susceptible.
Page 70, ligne 17, lire: orthophosphates.
Page 71, ligne 5, lire: phosphatémie.
Page 71, ligne 10, lire: divers au lieu de deux.
Page 71, ligne 27, lire: est au lieu de étant.
Page 76, ligne 10, lire: rétraction au lieu de réaction.
Page 84, ligne 28, lire: phosphatémie.
Page 88, ligne 16, lire: hernie au lieu de herniet.
Page 89, ligne 13, lire: plasmas au lieu de plasma.
Page 89, ligne 26, lire: sang au lieu de sant.
Page 90, ligne 4, lire: que les globules.
Page 90, ligne: 23, lire: très au lieu de tés.
Page 94, ligne 25, lire: dans le quart d'heure suivant la
prise de sang.

- Page 95, ligne 15, lire: Nous au lieu de nou.
Page 97, ligne 3, lire: Pathologie au lieu de pathologique.
Page 102, ligne 7, lire: 2,5 au lieu de 25.
Page 102, ligne 23, lire: hypophosphatémie au lieu de hyphosphatémie.
Page 103, ligne 12, lire: Myxœdème au lieu de myxœdémie.
Page 106, ligne 1, lire: une au lieu de nne.
Page 109, ligne 20, lire: parallèle au lieu de pareille.
Page 110, ligne 15, lire: considérable.
Page 112, ligne 17, lire: sont au lieu de ont.
Page 112, ligne 25, lire: esters au lieu de estes.
Page 121, ligne 31, lire: courbe au lieu de couche.
Page 128, ligne 20, lire: in vitro au lieu de initro.
Page 130, ligne 19, lire: Dulcy au lieu de Ducly.
Page 133, ligne 8, lire: superpose au lieu de superpos.
Page 136, ligne 10, lire: fluorure au lieu de fluore.
Page 137, ligne 9, lire: fluorure au lieu de fluore.
Page 137, ligne 11, lire: fluorure au lieu de fluore.
Page 140, ligne 14, lire: métabolisme.
Page 144, ligne 3, lire: buccale.
Page 147, ligne 15, lire: dressées.
Page 160, ligne 17, lire: extemporanément au lieu de extemporairement.
Page 161, ligne 19, lire: libère au lieu de libéré.
Page 167, ligne 24, lire: activité.
Page 171, ligne 2, lire: molybdo.
Page 171, ligne 12, lire: trichloracétique.
Page 174, ligne 11, lire: provient au lieu de prouvent.
Page 175, ligne 18, lire: diastasique au lieu de drastasique.
Page 185, ligne 16, lire: céruléo au lieu de cérulio.

